

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktoren: Prof. Dr. H. J. Dengler, Prof. Dr. H. A. Kühn,
Prof. Dr. H. G. Lasch
Abteilung: Prof. Dr. H. G. Lasch

Glycosaminoglycano-Hydrolasen in normalen und arteriosklerotisch veränderten menschlichen Aorten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Vorgelegt von
Hans-Peter Luboeinski
aus Lindenholzhausen

Gießen 1969



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545919_0023

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen
Direktoren: Prof. Dr. H. J. Dengler, Prof. Dr. H. A. Kühn,
Prof. Dr. H. G. Lasch
Abteilung: Prof. Dr. H. G. Lasch

Glycosaminoglycano-Hydrolasen in normalen und arteriosklerotisch veränderten menschlichen Aorten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Vorgelegt von
Hans-Peter Luboeinski
aus Lindenholzhausen

Gießen 1969

Dekan: Prof. Dr. E. Habermann

Referent: Prof. Dr. H. -G. Lasch

Korreferent: Prof. Dr. L. Róka



GLIEDERUNG :

	Seite
1. 0. 0. 0. EINLEITUNG	1
2. 0. 0. 0. UNTERSUCHUNGSMATERIAL	6
1. 0. 0. Gewinnung	6
2. 0. 0. Herstellung des Homogenatüberstandes	6
3. 0. 0. Vorbereitung zur DNS-Bestimmung	6
3. 0. 0. 0. METHODIK	11
1. 0. 0. Quantitative Erfassung der Arteriosklerose	11
2. 0. 0. Bestimmung der Enzymaktivitäten	11
1. 0. β -Glucuronidase	12
2. 0. β -Acetylglucosaminidase	13
3. 0. Hyaluronidase	13
3. 0. 0. Bestimmung des Proteingehaltes	13
4. 0. 0. Bestimmung des DNS-Gehaltes	14
4. 0. 0. 0. EINTEILUNG DES GEWONNENEN ZAH- LENMATERIALS	16
1. 0. 0. Enzymaktivitäten	16
1. 0. Einteilung nach Altersgruppen	16
1. β -Glucuronidase	16
2. β -Acetylglucosaminidase	16
2. 0. Einteilung nach Arteriosklerosestadien	19
1. β -Glucuronidase	19
2. β -Acetylglucosaminidase	19
3. 0. Einteilung nach dem Zustand der Restaorta	22
1. β -Glucuronidase	22
2. β -Acetylglucosaminidase	22
2. 0. 0. Proteingehalt	
1. 0. Einteilung nach Altersgruppen	25
2. 0. Einteilung nach Arteriosklerosestadien	25
3. 0. 0. DNS-Gehalt	28

	Seite
4.4.0.0. Paarweise Einteilung	28
1.0. Enzymaktivitäten	28
1. β -Glucuronidase	28
2. β -Acetylglucosaminidase	28
2.0. Proteingehalt	30
3.0. DNS-Gehalt	30
5.0.0. Korrelationsstatistische Einteilung	30
1.0. β -Acetylglucosaminidase / β -Glucuronidase	30
2.0. Enzymaktivitäten in zwei Bezugssystemen	31
1. β -Glucuronidase	31
2. β -Acetylglucosaminidase	31
5.0.0.0. STATISTIK	32
1.0.0. Berechnungsmethoden der Grundgrößen	32
1.0. Mittelwert	32
2.0. Varianz	33
3.0. Standardabweichung	33
4.0. Differenzen	33
1. Mittlere Differenz	33
2. Varianz	34
3. Standardabweichung	34
5.0. Korrelationen	34
1. Korrelationskoeffizient	34
2. Regressionsgerade	35
2.0.0. Bestimmungsmethoden der Irrtumswahrscheinlichkeiten	35
1.0. Vergleich der Standardabweichungen (F-Test)	35
2.0. Vergleich der Mittelwerte (t-Test)	36
3.0. t-Test für paarweisen Vergleich	36
4.0. Beurteilung des Korrelationskoeffizienten	37
6.0.0.0. ERGEBNISSE	39
1.0.0. Aortengewicht in Abhängigkeit vom Alter	39
2.0.0. Arteriosklerose in Abhängigkeit vom Alter	39

	Seite
6. 3. 0. 0.	Enzymaktivitäten 39
1. 0.	Enzymaktivitäten in Abhängigkeit vom Alter 39
1.	β -Glucuronidase 40
2.	β -Acetylglucosaminidase 40
2. 0.	Enzymaktivitäten in Abhängigkeit von arteriosklerotischen Veränderungen 40
1.	β -Glucuronidase 41
2.	β -Acetylglucosaminidase 41
3. 0.	Enzymaktivitäten in Abhängigkeit vom Zustand der Restaorta 42
1.	β -Glucuronidase 42
2.	β -Acetylglucosaminidase 43
4. 0. 0.	Proteingehalt 43
1. 0.	Proteingehalt in Abhängigkeit vom Alter 43
2. 0.	Proteingehalt in Abhängigkeit von arteriosklerotischen Veränderungen 44
5. 0. 0.	DNS-Gehalt in Abhängigkeit vom Alter 44
6. 0. 0.	Ergebnisse der paarweisen Vergleiche 44
1. 0.	Enzymaktivitäten 45
1.	β -Glucuronidase 45
2.	β -Acetylglucosaminidase 45
2. 0.	Proteingehalt 45
3. 0.	DNS-Gehalt 46
7. 0. 0.	Ergebnisse der Korrelationsstatistik 46
1. 0.	Korrelation zwischen β -Acetylglucosaminidase und β -Glucuronidase 46
2. 0.	Korrelationen zwischen Enzymaktivitäten in zwei verschiedenen Bezugssystemen 46
1.	β -Glucuronidase 46
2.	β -Acetylglucosaminidase 51
7. 0. 0. 0.	DISKUSSION 55
8. 0. 0. 0.	SCHLUSSFOLGERUNGEN 62
9. 0. 0. 0.	ZUSAMMENFASSUNG 63
10. 0. 0. 0.	LITERATURVERZEICHNIS 64

1. 0. 0. 0. EINLEITUNG

Wie jeder andere Bestandteil des menschlichen Körpers, so sind auch die Arterien im Laufe des Lebens Veränderungen unterworfen. Diese Veränderungen können physiologischer oder pathologischer Art sein.

Die wichtigsten physiologischen Veränderungen sind die, die ihren Ursprung im Vorgang des Alterns haben (17, 52, 53, 72, 79, 88, 101 u. a.), während als pathologische Veränderung der arteriellen Gefäße hauptsächlich die Arteriosklerose in Frage kommen dürfte (112).

Die neuere Forschung hat gezeigt, daß bei allen Gefäßveränderungen im Stoffwechsel der Gefäßwand wichtige kausale Prinzipien zu suchen sind (1, 2, 15, 28, 29, 32, 37, 55, 58, 59, 64, 68, 69, 90, 91, 93, 94, 101, 107, 110, 111, 116, 120 u. a.).

Bei der Betrachtung speziell des Aortenwandstoffwechsels ist die Tatsache, daß nur die äußeren zwei Drittel der Gefäßwand von *vase vasorum* durchsetzt sind (33, 121), der Rest also per *diffusionem* vom Blutstrom des Gefäßlumens her versorgt werden muß, von wichtiger Bedeutung, da einerseits alle für den Stoffwechsel notwendigen Substrate eine Diffusionsstrecke passieren müssen, um zu den stoffwechselaktiven Zellen zu gelangen, andererseits alle Stoffwechselprodukte über diesen Weg in den Blutstrom oder das Interstitium abgegeben werden. Diese interzelluläre Transitstrecke bietet daher folgendes Bild: "Endpunkte" dieser Strecke sind auf der einen Seite nach dem Gefäßlumen hin das Endothel, auf der anderen Seite im subendothelialen und intimalen Bindegewebslager die ortsständigen Zellen. Von diesen stellen die Fibroblasten in diesem allein auf stoffliche Diffusion aus dem Gefäßlumen angewiesenen Gebiet wichtige Zentren des Stoffwechsels dar, und sie sind für den Zustand und das Verhalten dieser Bezirke der Gefäßwand von großer Bedeutung. Sie synthetisieren die interzelluläre Grundsubstanz ebenso wie die kollagenen und elastischen Fasern und beeinflussen enzymatisch ihre Umgebung (76, 118).

Der Raum zwischen den Zellen und kollagenen und elastischen Fasern erscheint lichtoptisch homogen, elektronenoptisch stellen sich aber in ihm feinste Fibrillen innerhalb einer unstrukturierter Masse - der eigentlichen Grundsubstanz - dar. Diese Grundsubstanz setzt sich aus Proteinen, Mucopolysacchariden, Lipiden, Elektrolyten, Serumbestandteilen und Wasser zusammen (113).

Von all diesen Stoffen dürften auf Grund ihrer molekularen Struktur und ihrer physikochemischen Eigenschaften die Mucopolysaccharide (MPS) die hervorragendste Stellung einnehmen.

Ihrer chemischen Struktur nach sind Mucopolysaccharide polymere Kohlenhydrate; - nach dem Fehlen oder Vorhandensein von Säurekomponenten teilt man sie in neutrale und saure MPS ein. Beide Gruppen können mit Proteinen Komplexe bilden, die, wenn der Hexosamingehalt mehr als vier Prozent beträgt als Mucoproteide, bei geringerem Hexosamingehalt als Glycoproteide bezeichnet werden (6, 78, 82). Strukturell am besten aufgeklärt sind die sauren MPS (saure Glycosaminoglycane), von denen in der Aortenwand folgende gefunden wurden: Hyaluronsäure, Chondroitinsulfat A, B und C, Chondroitin, Heparitin- und Keratosulfat (4, 6, 18-21, 23, 46, 60, 67, 78, 83-85 u. a.).

Die sauren MPS sind an Proteine kovalent gebunden und bilden durch Quer- und Längsverbindungen vielfach gewundene Riesenmoleküle, die in ihrer Gesamtheit ein Molekularsieb mit einer Porengröße von 50 - 100 Å darstellen (26, 30, 75, 109). Wegen dieser und anderer Eigenschaften (Polymerisationsgrad, elektrische Ladung, Membranpotential) sind die sauren MPS für die wichtigsten Eigenschaften der Grundsubstanz verantwortlich. Von ihrer ungestörten Struktur und Funktion hängen demnach Stoffdiffusion, Wasserbindungsvermögen, pH-Stabilisierung, Ionenaustausch und andere Leistungen der Grundsubstanz ab (11, 19, 21, 46), während die Grundsubstanz wiederum durch ihre orthische Funktion einen regelrechten Stoffwechsel der Gefäßwandzellen garantiert.

Störungen im makromolekularen Bereich der sauren MPS können also theoretisch der Beginn einer Kausalkette sein, die schließlich in makroskopisch erfaßbaren Veränderungen der Gefäßwand endet (78).

Da diese Störungen ihre Ursachen im Bereich der Stoffwechselvorgänge der sauren MPS haben können, sind Untersuchungen auf diesem Gebiet von wesentlichem Interesse. Der Stoffwechsel der sauren MPS gliedert sich in Synthese- und Abbauvorgänge (9, 39). Die Synthese der sauren MPS konnte durch die Isotopentechnik mit ^{14}C -markierten Stoffen (Laktat, Pyruvat, Glucose und Acetat) und $^{35}\text{SO}_4$ weitgehend aufgeklärt werden; - dabei wurde eine Halbwertszeit von etwa zehn Tagen ermittelt (12, 31, 47, 57, 61, 64, 65, 66).

Eine derart hohe Umsatzgeschwindigkeit postuliert auch schnell verlaufende Abbauvorgänge und damit natürlich das Vorhandensein depolymerisierender Enzyme.

BUDDECKE, HOEFELE, PLATT und WERRIES (25, 27, 31) konnten die Existenz dieser Enzyme in Rinderaorten nachweisen, ihre Eigenschaften bestimmen und sie als Hyaluronidase (EC 3. 2. 1. 35), β -Glucuronidase (EC 3. 2. 1. 31) und β -Acetylglucosaminidase (EC 3. 2. 1. 30) identifizieren (5, 8, 10, 41, 43, 51, 55, 56, 73, 89, 92, 115, 124, 125 u. a.).

Hyaluronidase spaltet die sauren MPS in geradzahlige Oligosaccharide. Diese Wirkung der Hyaluronidase stellt eine Vorbedingung für die weitere Depolymerisation dar (2, 74, 80, 86). Von diesen Tetrasacchariden wird durch die β -Glucuronidase Glucuronsäure abgespalten, und es entstehen ungeradzahlige Oligosaccharide, die durch den Einfluß der β -Acetylglucosaminidase in geradzahlige Spaltprodukte überführt werden (25, 31).

Nachdem PLATT (93) in der menschlichen Aortenwand Aktivitäten dieser drei Enzyme nachweisen konnte und ihr Verhalten im Alter und bei arteriosklerotischen Veränderungen prüfte, folgten weitere Untersuchungen dieser Art von KRESSE und BUDDECKE (68, 69).

In diesen Arbeiten wurden entweder Aorten in toto nach arterio-

sklerotischen Veränderungen klassifiziert (93), oder es wurde in den höheren Altersklassen auf die Untersuchung normaler Wandabschnitte verzichtet (68,69). Die im Rahmen dieser Untersuchungen gemessenen Aktivitäten der sauren Glycosaminoglycano-Hydrolasen sind deshalb nur sehr schwer getrennt mit dem Alter oder der Arteriosklerose der Aorta korrelierbar.

Nach LINDNER (78) und PLATT, BENEKE und BUDDECKE (95) sind makroskopische Befunde der Aortenwand und Ergebnisse biochemischer Analysen von Aortenhomogenaten nur unter Vorbehalt miteinander zu vergleichen, da einerseits der arteriosklerotische Zustand der Aorta bei alleiniger makroskopischer Beurteilung unterbewertet wird (95), andererseits in Homogenaten durch Lokalisation bedingte Konzentrationsunterschiede der zu untersuchenden Substanzen und inhomogene pathologische Gewebsveränderungen nivelliert werden (78).

Deswegen wurde mit dieser Arbeit der Versuch unternommen, durch möglichst exakte Präparation eines Teiles der menschlichen Aorta in makroskopisch homogen normale oder arteriosklerotische Abschnitte ein Bezugssystem für die Ergebnisse der nachfolgenden biochemischen Untersuchungen zu schaffen und durch mikroskopische Untersuchung der einzelnen Stadien arteriosklerotischer Veränderungen zu kontrollieren (99-102).

Grundlage der makroskopischen Beurteilung und anschließenden Präparation war eine 4-Stadien-Einteilung der Arteriosklerose nach MCGILL et al. (81). Diese Einteilung gibt die Möglichkeit (siehe 2.1.0.0.), Zusammenhänge zwischen Aktivitäten von β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase (über Hyaluronidase siehe 3.2.3.0) und folgenden Faktoren getrennt zu untersuchen:

- a) Bezugsgrößen für die Angaben über Enzymaktivitäten (Proteingehalt, DNS-Gehalt),
- b) Alter,
- c) Makroskopisch erkennbarer arteriosklerotischer Zustand,
- d) Makroskopisch nicht erkennbares arteriosklerotisches Frühstadium.

2. 0. 0. 0. UNTERSUCHUNGSMATERIAL

Verwandt wurde ein unausgelesenes Sektionsgut, bei dem auf Homogenität in Bezug auf Alter und Geschlecht geachtet wurde. Durch möglichst gleichbleibende Methodik der Lagerung, Aufarbeitung und Messungen wurde versucht, Einflüsse von dieser Seite aus weitgehend zu reduzieren. Eventuelle postmortale Enzymaktivitätsänderungen konnten durch Bezugnahme auf Lagerungsversuche mit Rinderaorten (93, 101) unberücksichtigt bleiben.

2. 1. 0. 0. Gewinnung

Alle Bestimmungen wurden an dem Abschnitt der Aorta, der sich von der Herzbasis bis zum Abgang des truncus coeliacus erstreckt, durchgeführt.

Dieser Aortenabschnitt wurde sofort nach der Sektion entnommen, von der Adventitia und anhängendem Gewebe befreit und nach folgenden makroskopischen Gesichtspunkten (81) sorgfältig zerlegt:

Stadium A: Aortenwand unverändert; Intima zart, glatt und gleichmäßig rötlich gefärbt,

Stadium B: gelblich-weiße Lipoidose-Herde der Intima ("fatty flecks and streaks") (Abb. 1),

Stadium C: helle, erhabene Atherome und MPS-Plaques ("pearly plaques", "fibrous plaques") (Abb. 1),

Stadium D: Kalkeinlagerungen, Ulzerationen, hämorrhagische Wandbezirke ("complicated lesions") (Abb. 1).

Die so von einem Aortenabschnitt gewonnenen Teile wurden pro Stadium zusammengegeben und in luftdicht verschlossenen Gefäßen bei -25°C aufbewahrt.

2. 2. 0. 0. Herstellung des Homogenatüberstandes

Das bei -25°C eingefrorene Untersuchungsmaterial - aus technischen

Abbildung 1



Stadium D :

Kalkeinlagerungen,
Ulzerationen.

Stadium B :

Lipidose-Herde.

Stadium C :

Atherome,
MPS-Plaques.

Abschnitt der aorta thoracica mit verschiedenen
Schweregraden arteriosklerotischer Veränderungen.

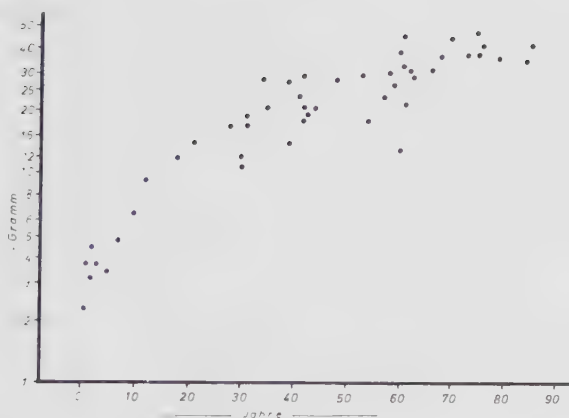
Gründen mußten je Stadium mindestens 2 - 3 g vorliegen - wurde bei Zimmertemperatur aufgetaut und in der dreifachen Menge physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen. Anschließend wurde 40 mal je fünf Sekunden mit Pausen von 25 Sekunden im Eisbad mit einem Ultraturrax (Fa. Janke u. Kunkel, Staufen) homogenisiert. Mit dieser Methode konnten erkennbare Temperaturerhöhungen des Homogenates vermieden werden.

Das Homogenat wurde dann nach dreimaligem Einfrieren bei -25°C und Auftauen bei Zimmertemperatur in der Kühlzentrifuge (MSE Highspeed, London) bei $+4^{\circ}\text{C}$ und 3000 Umdrehungen pro Minute 20 Minuten lang zentrifugiert. Das Sediment wurde verworfen, der Überstand über Mull filtriert und das Filtrat zu den Enzymaktivitäts- und Proteinbestimmungen eingesetzt.

2.3.0.0. Vorbereitung zur DNS-Bestimmung

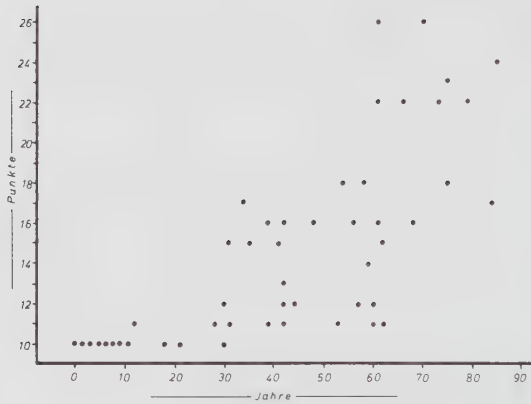
Hierzu wurde - falls genügend Material vorhanden war - von dem zur Homogenatherstellung aufgetauten Untersuchungsgut pro Stadium 1 - 2 g abgezweigt und im Wärmeschrank bei 60°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Das Trockengewebe wurde dann staubfein zermahlen und vor Feuchtigkeit geschützt bis zur DNS-Bestimmung aufbewahrt.

Abbildung 2



Veränderung des Gewichtes des untersuchten Aortenabschnittes (Herzbasis bis truncus coeliacus) mit zunehmendem Alter (Gewicht ist logarithmisch aufgetragen).

Abbildung 3



Darstellung der quantitativen Abhängigkeit der Aortensklerose vom Alter.

3. 0. 0. 0. METHODIK

3. 1. 0. 0. Quantitative Erfassung der Arteriosklerose

Um eine möglichst objektive Aussage über die Gesamtheit der arteriosklerotischen Veränderungen des untersuchten Aortenabschnittes machen zu können, wurden die unter 2. 1. 0. 0. nach den Gesichtspunkten A, B, C und D gesammelten Teile eines Aortenabschnittes je Stadium gewogen und in Gew. % des Gesamtabschnittes ausgedrückt. Pro 10 Gew. % wurden nun bei Stadium A ein Punkt, Bei Stadium B zwei, bei Stadium C drei und bei Stadium D vier Punkte gegeben. Die so verteilten Punkte wurden je Aortenabschnitt addiert und die Summe als Maß für seinen Arteriosklerosezustand verwandt.

3. 2. 0. 0. Enzymaktivitätsbestimmungen

Alle Enzymaktivitäten wurden in Homogenatüberständen gemessen. Folgende Leerwerte mußten bestimmt werden :

Substratleerwert : Substratlösung und Puffer,

Enzymleerwert : Ersatz des Substrates durch das entsprechende Lösungsmittel.

Bei allen Messungen wurden Doppelbestimmungen durchgeführt und die Mittelwerte als repräsentativ angesehen. Um Fehlmessungen durch gealterte Reagenzien zu vermeiden, lief jedesmal ein Standard-Eichwert mit.

3. 2. 1. 0. β -Glucuronidase

Die Bestimmung erfolgte hier mit Phenolphthalein-mono- β -Glucuronid (Sigma Chemicals Co., St. Louis, USA) als Substrat (119). Die Methode war im wesentlichen die von FISHMAN (44) angegebene und nach DOHRMANN (38) modifizierte.

Die Teströhrchen enthielten 0,1 ml Natriumacetat-Essigsäure-Puffer

(0,1 molar, pH 5,2), in dem 0,5 mg Phenolphthalein-mono- β -Glucuronid (0,01 molar) gelöst war und 0,8 ml desselben Puffers.

Nach Zugabe von 0,1 ml Homogenatüberstand wurde zwei Stunden lang bei 37°C inkubiert. Danach wurden zur Unterbrechung der Reaktion und zur Farbentwicklung des freigesetzten Phenolphthaleins im alkalischen Milieu 2,5 ml Glycinpuffer nach SÖRENSEN (0,4 molar, pH 10,45) hinzugegeben. Nach anschließendem scharfen Zentrifugieren (5 Minuten in der Tischzentrifuge) erfolgte die colorimetrische Messung des freigesetzten Aglycons im Eppendorf-Photometer bei 546 nm 10 bis 20 Minuten nach Zugabe des Glycinpuffers.

Die entsprechenden Eichwerte wurden mit Phenolphthalein, das in Alkohol gelöst und mit Acetatpuffer verdünnt worden war, ermittelt. Als Einheit der β -Glucuronidase-Aktivität galt 1 Unit (= 1 U = 1000 mU). 1 U ist die Enzymaktivität, die in einer Minute bei 37°C den Umsatz von einem Mikromol Phenolphthalein-mono- β -Glucuronid je Milligramm Protein katalysiert.

3.2.2.0. β -Acetylglucosaminidase

Als Substrat zur Bestimmung der Enzymaktivität diente Phenyl-N-acetyl- β -D-Glucosaminid (123).

Die Teströhrchen enthielten 2,97 mg in 0,4 ml aqua dest. gelöstes Substrat (0,025 molar) und 0,5 ml Citrat-Phosphat-Puffer (0,1 molar, pH 4,4). Nach Zugabe von 0,1 ml Homogenatüberstand und zweistündiger Inkubation bei 37°C wurde die Reaktion durch 2 ml einer im Verhältnis 1 : 3 mit aqua dest. verdünnten Lösung des Phenolreagenzes nach FOLIN-CIOCALTEU beendet. Das dadurch ausgefällte Protein wurde scharf abzentrifugiert, 2 ml des Überstandes abgehebert und mit 3 ml einer Natriumcarbonat-Lösung von 12 Gew. % versetzt. Zur vollständigen Entwicklung der dann einsetzenden Blaufärbung wurde 20 Minuten lang bei 37°C inkubiert. Danach wurde das freigesetzte Aglycon bei 650 nm im Photometer

(Beckmann DB-G) colorimetrisch bestimmt (105). Die zur Berechnung der Phenolmengen notwendigen Eichwerte konnten durch in Citratpuffer gelöstes Phenol gewonnen werden.

Die Einheit der Enzymaktivität war 1 U (= 1000 mU). 1 U ist die β -Acetylglucosaminidase-Aktivität, die bei einem pH von 4,4 und 37°C in 1 Minute je mg Protein ein Mikromol Phenol freisetzt.

3. 2. 3. 0. Hyaluronidase

Das Substrat zum Nachweis der Hyaluronidase-Aktivität war Kaliumhyaluronat aus Hahnenkämmen (22, 24). Die Versuche wurden mit folgendem Ansatz durchgeführt (27): 0,5 mg in 0,15 ml aqua dest. gelöstes Kaliumhyaluronat und 0,3 ml Homogenatüberstand wurden zusammengegeben und bei 37°C inkubiert.

Obwohl die Inkubationszeit sehr lange ausgedehnt wurde (über 14 Stunden), konnte anschließend mit der modifizierten MORGAN-ELSON-Reaktion (106) kein freigesetztes N-Acetylglucosamin nachgewiesen werden.

Auf Versuche zur Anreicherung (Fällung, Säulenchromatographie) wurde aus Gründen des in den meisten Fällen zu geringen Ausgangsmaterials und der statistischen Nichtverwertbarkeit der zu erwartenden Ergebnisse verzichtet (27, 40, 68, 69, 93).

3. 3. 0. 0. Bestimmung des Proteingehaltes

Der Proteingehalt des Homogenatüberstandes wurde mit der Biuret-Methode nach WEICHSELBAUM (122) bestimmt.

Biuret-Reagenz: 45 g Kaliumnatriumtartrat, 15 g Cu(II)-Sulfat,
5 g Kaliumjodid in 1 Liter carbonatfreier
0,2 n Natronlauge.

Ausführung: 0,2 ml Homogenatüberstand wurden mit 1,8 ml physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 10 verdünnt und nach Zugabe von 2 ml Biuret-Reagenz 20 Minuten lang bei Zimmertemperatur stehengelassen. Um eventuelle Trübungen zu eliminieren,

wurde dann 5 Minuten lang hochtourig zentrifugiert. Anschließend erfolgte die Extinktionsmessung bei 546 nm im Photometer "Ependorf" gegen folgende mitlaufenden Leerwerte :

- 1) 0,2 ml Homogenatüberstand und 3,8 ml physiologische Kochsalzlösung.
- 2) 2 ml physiologische Kochsalzlösung und 2 ml Biuret-Reagenz.

Alle Bestimmungen wurden als Doppelbestimmungen ausgeführt; zur Berechnung des Proteingehaltes wurden jeweils die Mittelwerte eingesetzt. Die notwendigen Eichwerte wurden durch Verdünnungsreihen mit dem Kontroll-Serum "Lab-Trol" (DADE Reagents Inc., Miami, USA) gewonnen. Möglichst alle Bestimmungen wurden im Zuverlässigkeitsbereich der Methode zwischen 0,2 und 1,6 mg Protein pro ml verdünntem Homogenatüberstand durchgeführt.

3.4.0.0. Bestimmung des DNS-Gehaltes

Die quantitative Bestimmung der Desoxyribonucleinsäure (DNS) erfolgte in dem unter 2.3.0.0. vorbereiteten Trockengewebe im wesentlichen mit der Indol-Reaktion nach CERIOTTI (34) und KECK (62).

Reagenzien: 0,06 %ige Indollösung in aqua dest.,
3 n Salzsäure,
Essigsäure-iso-amylester.

Ausführung: 50 mg des staubfein zermahlenen Trockengewebes wurden mit 4 ml Perchlorsäure (0,5 molar) 30 Minuten lang bei 90°C im Wasserbad hydrolysiert. Nach anschließendem fünfminütigem Abzentrifugieren mit der Tischzentrifuge wurden nach Verwerfen des Rückstandes 3 ml des erkalteten Hydrolysates abgehebert und mit Perchlorsäure auf 5 ml aufgefüllt.

Nun wurden davon 2 ml zusammen mit 1 ml Indollösung und 1 ml Salzsäure für 10 Minuten bei 90°C inkubiert.

Nach dem Abkühlen dieser Lösung bei Zimmertemperatur wurde

zweimal mit dem gleichen Volumen Essigsäure-iso-amylester kräftig ausgeschüttelt und jedesmal nach vollständiger Trennung der beiden Phasen der überstehende Essigsäure-iso-amylester abgehebert und verworfen. Der Rückstand wurde kurz zentrifugiert und fünf Minuten nach Übergießen in die Küvette - um Einflüsse durch entstandenen Schüttelschaum auszuschließen - bei 490 nm im Photometer (Beckmann DB-G) gemessen.

Folgende Leerwerte liefen mit :

- 1) 2 ml Hydrolysat und 2 ml Perchlorsäure,
- 2) 2 ml Perchlorsäure, 1 ml Indollösung und 1 ml Salzsäure.

Die zur Berechnung des DNS-Gehaltes benötigten Eichwerte wurden durch entsprechende Versuchsansätze mit DNS aus Heringssperma ("niedermolekular, pract., entfettet", Serva Entwicklungslabor, Heidelberg) ermittelt.

Das LAMBERT-BEER'sche Gesetz galt hier bis zu einer maximalen Extinktion von 0,6.

4.0.0.0. EINTEILUNG DES GEWONNENEN ZAHLENMATERIALS

Um die durch die entsprechenden Messungen ermittelten Werte einer statistischen Auswertung zugänglich zu machen, mußten sie der Thematik und Fragestellung dieser Arbeit gemäß zunächst nach verschiedenen Gesichtspunkten eingeteilt werden.

4.1.0.0. Enzymaktivitäten

Die Einheit aller hier gemessenen Enzymaktivitäten ist 1 mU (siehe 3.2.0.0.)

4.1.1.0. Einteilung nach Altersgruppen

Hier wurden die Enzymaktivitäten makroskopisch normaler Aortenabschnitte (Stadium A) in vier Altersgruppen eingeteilt, um eventuelle, rein altersabhängige Unterschiede beurteilen zu können.

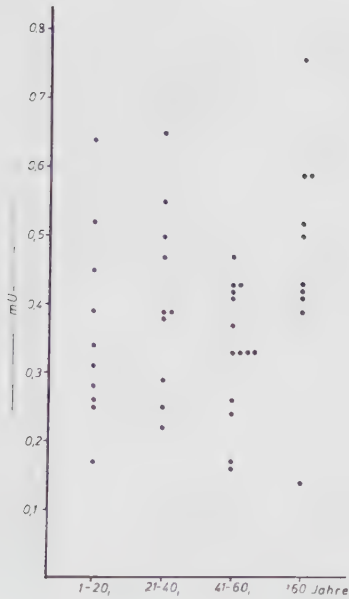
4.1.1.1. β -Glucuronidase (Abb. 4)

<u>1 - 20,</u>	<u>21 - 40,</u>	<u>41 - 60,</u>		<u>über 60 Jahre</u>
0,64	0,65	0,47	0,26	0,76
0,52	0,55	0,43	0,24	0,59
0,45	0,50	0,43	0,17	0,59
0,39	0,47	0,42	0,16	0,52
0,34	0,39	0,41		0,50
0,31	0,39	0,37		0,43
0,28	0,38	0,33		0,42
0,26	0,29	0,33		0,41
0,25	0,25	0,33		0,39
0,17	0,22	0,33		0,14

4.1.1.2. β -Acetylglucosaminidase (Abb. 5)

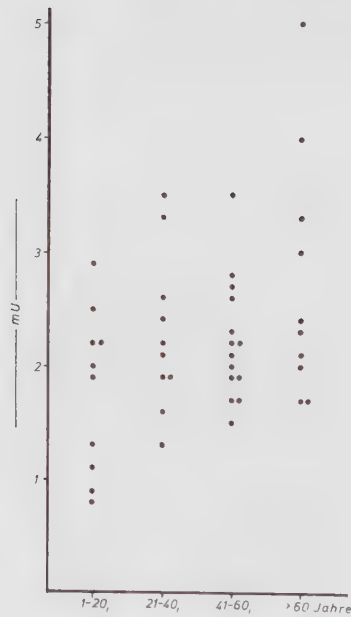
<u>1 - 20,</u>	<u>21 - 40,</u>	<u>41 - 60,</u>		<u>über 60 Jahre</u>
2,9	3,5	3,5	1,9	5,0
2,5	3,3	2,8	1,7	4,0
2,2	2,6	2,7	1,7	3,3
2,2	2,4	2,6	1,5	3,0
2,0	2,2	2,3		2,4
1,9	2,1	2,2		2,3
1,3	1,9	2,2		2,1
1,1	1,9	2,1		2,0
0,9	1,6	2,0		1,7
0,8	1,3	1,9		1,7

Abbildung 4



β -Glucuronidase-Aktivitäten unveränderter Aortenabschnitte in Abhängigkeit vom Alter.

Abbildung 5



β -Acetylglucosaminidase-Aktivitäten unveränderter Aortenabschnitte in Abhängigkeit vom Alter.

4.1.2.0. Einteilung nach Arteriosklerosestadien (Abb. 6 und 7)

Grundlage dieser Einteilung war die makroskopische Beurteilung der Gefäßwand. Neben einem Normalstadium (A) wurden noch drei Stadien arteriosklerotischer Veränderungen (B, C, D) unterschieden (siehe Seite 6)

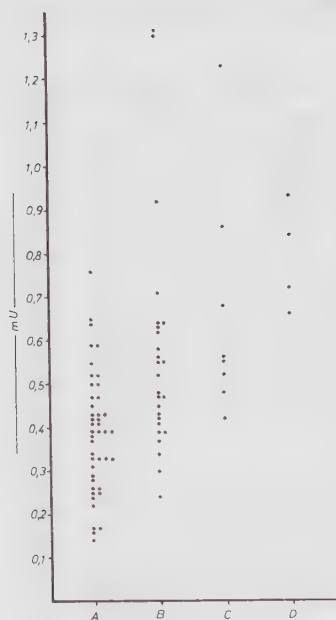
4.1.2.1. β -Glucuronidase

A	B	C	D
0,76	1,31	1,23	0,93
0,65	1,30	0,86	0,84
0,64	0,92	0,68	0,72
0,59	0,71	0,56	0,66
0,59	0,64	0,55	
0,55	0,64	0,52	
0,52	0,63	0,48	
0,52	0,62	0,42	
0,50	0,58		
0,50	0,56		
0,47	0,55		
0,47	0,55		
0,45	0,52		
0,43	0,48		
0,43	0,47		
0,43	0,47		
0,42	0,45		
0,42	0,43		
0,41	0,42		
0,41	0,41		
0,39	0,39		
0,39	0,39		
0,39	0,37		
0,39	0,34		
0,38	0,30		
0,37	0,24		
0,34			
0,33			
0,33			
0,33			
0,33			
0,31			
0,29			
0,28			
0,26			
0,26			
0,25			
0,25			
0,24			
0,22			
0,17			
0,17			
0,16			
0,14			

4.1.2.2. β -Acetylglucosaminidase

A	B	C	D
5,0	9,9	7,6	8,4
4,0	5,9	5,6	4,8
3,5	5,1	5,0	2,1
3,5	4,0	3,5	2,0
3,3	3,9	3,5	
3,3	3,9	3,2	
3,0	3,8	2,5	
2,9	3,6	2,1	
2,8	3,5		
2,7	3,3		
2,6	3,2		
2,6	3,2		
2,5	2,8		
2,4	2,8		
2,4	2,8		
2,3	2,6		
2,3	2,6		
2,2	2,5		
2,2	2,5		
2,2	2,4		
2,2	2,3		
2,1	2,3		
2,1	2,2		
2,1	2,1		
2,0	1,9		
2,0			
2,0			
1,9			
1,9			
1,9			
1,9			
1,7			
1,7			
1,7			
1,6			
1,5			
1,3			
1,3			
1,1			
0,9			
0,8			

Abbildung 6



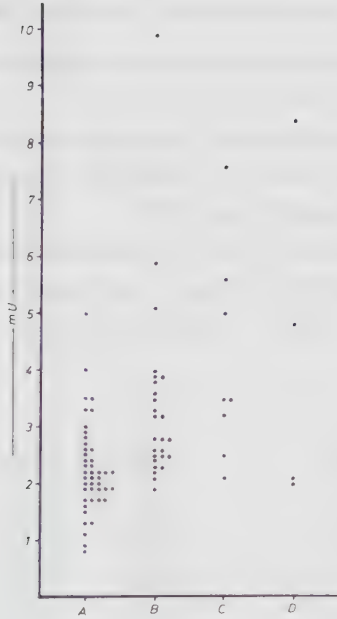
β-Glucuronidase-Aktivitäten in normalen
(A) und arteriosklerotisch veränderten
Aortenwandbezirken :

B : Lipoidose-Herde,

C : Atherome, MPS-Plaques,

D : Kalkeinlagerungen, Ulzerationen.

Abbildung 7



β -Acetylglucosaminidase-Aktivitäten in
normalen (A) und arteriosklerotisch
veränderten Aortenwandbezirken :

B : Lipoidose-Herde,

C : Atherome, MPS-Plaques,

D : Kalkeinlagerungen, Ulzerationen

4.1.3.0. Einteilung nach dem Zustand der Restaorta

Um festzustellen, wie Enzymaktivitäten normaler Wandbezirke vom arteriosklerotischen Zustand der übrigen Aorta abhängen, wurden alle entsprechenden Enzymaktivitäten folgendermaßen klassifiziert:

- Gruppe I : Enzymaktivitäten völlig unveränderter Aorten
(10 Punkte in Abb. 3)
- Gruppe II : Enzymaktivitäten unveränderter Wandbezirke bei geringgradiger Lipoidose der Restaorta
(11 Punkte in Abb. 3)
- Gruppe III : Enzymaktivitäten unveränderter Wandbezirke bei mäßiger bis starker Arteriosklerose der Restaorta (über 11 Punkte in Abb. 3)

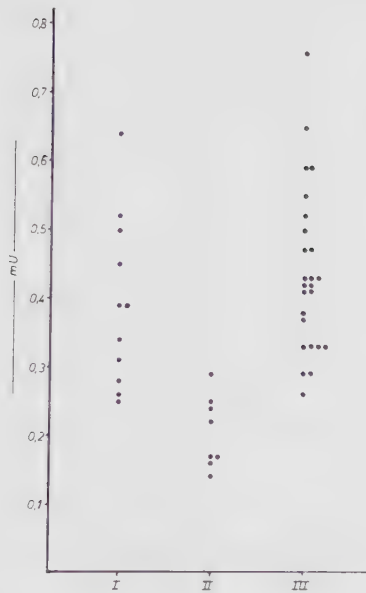
4.1.3.1. β -Glucuronidase (Abb. 8)

I	II	III		
0,64	0,29	0,76	0,43	0,33
0,52	0,25	0,65	0,42	0,33
0,50	0,24	0,59	0,42	0,26
0,45	0,22	0,59	0,41	
0,39	0,17	0,55	0,41	
0,39	0,17	0,52	0,39	
0,34	0,16	0,50	0,39	
0,31	0,14	0,47	0,38	
0,28		0,47	0,37	
0,26		0,43	0,33	
0,25		0,43	0,33	

4.1.3.2. β -Acetylglucosaminidase (Abb. 9)

I	II	III		
3,3	2,2	5,0	2,3	1,7
2,9	2,1	4,0	2,3	1,7
2,5	1,9	3,5	2,2	1,3
2,4	1,9	3,5	2,2	
2,2	1,7	3,3	2,2	
2,0	1,7	3,0	2,1	
1,9	1,6	2,8	2,1	
1,3	1,5	2,7	2,0	
1,1		2,6	2,0	
0,8		2,6	1,9	
0,9		2,4	1,9	

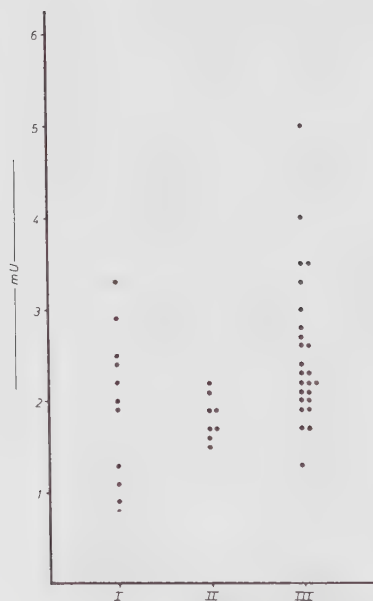
Abbildung 8



β -Glucuronidase-Aktivitäten normaler Aortenwandbezirke in Abhängigkeit vom Zustand der Restaorta :

- I : Restaorta völlig unverändert,
- II : geringgradige Lipoidose der Rest-aorta,
- III : mäßige bis starke Arteriosklerose der Restaorta.

Abbildung 9



β -Acetylglucosaminidase-Aktivitäten normaler Aortenwandbezirke in Abhängigkeit vom Zustand der Aorta :

- I : Restaorta völlig unverändert,
- II : geringgradige Lipoidose der Restaorta,
- III : mäßige bis starke Arteriosklerose der Restaorta.

4.2.0.0. Proteingehalt

Die Einheit des Proteingehaltes ist 1 mg pro ml Homogenatüberstand. Die Einteilung erfolgte bei Werten unveränderter Aortenbezirke nach Altersgruppen, sonst nach Arteriosklerosestadien.

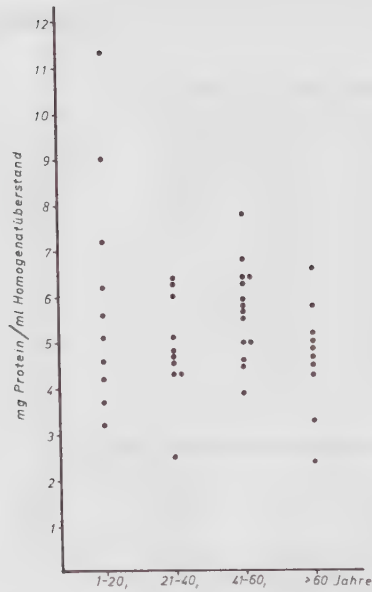
4.2.1.0. Einteilung nach Altersgruppen (Abb. 10)

<u>1 - 20,</u>	<u>21 - 40,</u>	<u>41 - 60,</u>		<u>über 60 Jahre</u>
11,3	6,4	7,8	5,0	6,6
9,0	6,3	6,8	4,6	5,8
7,2	6,0	6,4	4,5	5,2
6,2	5,1	6,4	3,9	5,0
5,6	4,8	6,3		4,9
5,1	4,7	5,9		4,7
4,6	4,6	5,8		4,5
4,2	4,3	5,7		4,3
3,7	4,3	5,6		3,3
3,2	2,5	5,0		2,4

4.2.2.0. Einteilung nach Arteriosklerosestadien (Abb. 11)

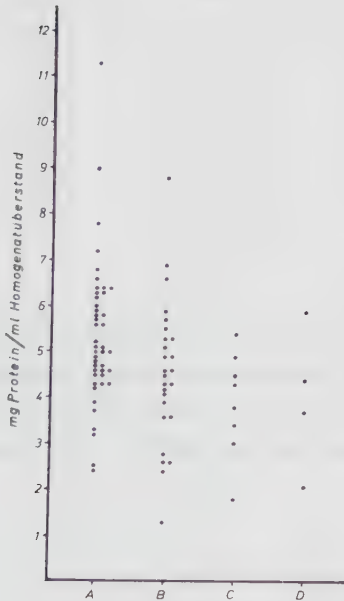
<u>A</u>		<u>B</u>		<u>C</u>	<u>D</u>
11,3	5,0	8,8	2,6	5,4	5,9
9,0	5,0	6,9	2,6	4,9	4,4
7,8	5,0	6,6	2,4	4,5	3,7
7,2	4,9	5,9	1,3	4,3	2,1
6,8	4,8	5,7		3,8	
6,6	4,7	5,5		3,4	
6,4	4,7	5,3		3,0	
6,4	4,6	5,3		1,8	
6,4	4,6	5,1			
6,3	4,6	4,9			
6,3	4,5	4,9			
6,2	4,5	4,6			
6,0	4,3	4,6			
5,9	4,3	4,5			
5,8	4,3	4,3			
5,8	4,2	4,3			
5,7	3,9	4,2			
5,6	3,7	4,1			
5,6	3,3	3,9			
5,2	3,2	3,6			
5,1	2,5	3,6			
5,1	2,4	2,8			

Abbildung 10



Proteingehalte unveränderter Aortenwandbezirke in Abhängigkeit vom Alter.

Abbildung 11



Proteingehalte in normale (A) und arteriosklerotisch veränderten Aortenwandbezirken :

B : Lipoidose-Herde ,

C : Atherome, MPS-Plaques,

D : Kalkeinlagerungen, Ulzerationen.

4.3.0.0. DNS-Gehalt (Abb. 12)

Die im Trockengewebe unveränderter Wandbezirke (Stadium A) bestimmten DNS-Gehalte wurden auf das entsprechende Frischgewicht bezogen und in μg pro Gramm Frischgewebe ausgedrückt. Zweckmäßigerweise wurde nach folgenden Altersgruppen eingeteilt:

0 - 1,	2 - 30,	31 - 60,	über 60 Jahre
455	148	154 79	147 70
376	109	125 74	141 66
344	108	121 70	117 53
294	91	106 69	105
260	87	89 65	90
256	64	88 52	88
246	63	87	86
232		86	80

4.4.0.0. Paarweise Einteilung

Da bei mehreren Aorten genügend Ausgangsmaterial vorlag, um gleichzeitig Messungen sowohl an normalen (Stadium A) als auch an arteriosklerotisch leicht veränderten Wandbezirken (Stadium B) durchzuführen, konnten hier die Werte je nach Aorta paarweise geordnet werden.

4.4.1.0. Enzymaktivitäten

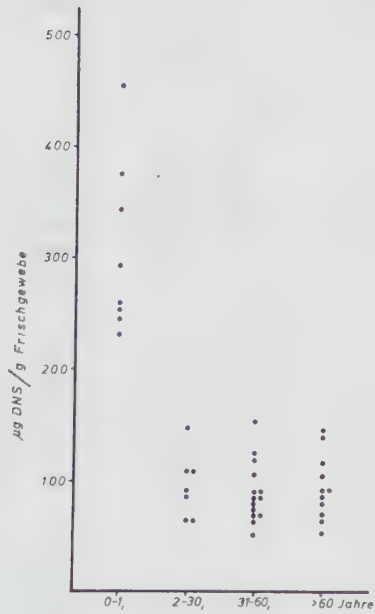
4.4.1.1. β -Glucuronidase (in mU)

A - B	A - B	A - B	A - B
0,59 - 1,31	0,41 - 0,63	0,47 - 0,62	0,33 - 0,43
0,42 - 0,71	0,43 - 0,41	0,50 - 0,64	0,47 - 0,55
0,26 - 0,45	0,39 - 0,39	0,59 - 0,64	0,39 - 0,55
0,14 - 0,42	0,33 - 0,30	0,76 - 1,30	0,43 - 0,47
0,33 - 0,24	0,42 - 0,58	0,38 - 0,47	
0,37 - 0,39	0,33 - 0,34	0,52 - 0,56	

4.4.1.2. β -Acetylglucosaminidase (in mU)

A - B	A - B	A - B	A - B
2,1 - 3,3	2,4 - 3,8	2,6 - 4,0	2,6 - 3,2
5,0 - 9,9	1,7 - 3,2	3,0 - 3,9	2,2 - 2,5
2,7 - 2,5	2,0 - 3,5	2,3 - 2,5	1,9 - 2,8
1,7 - 2,3	1,7 - 2,3	4,0 - 5,9	1,9 - 2,2
2,2 - 2,6	2,3 - 2,6	2,2 - 2,8	
2,0 - 2,1	2,1 - 1,9	3,3 - 3,6	

Abbildung 12



DNS-Gehalte unveränderter Aortenwand-
bezirke in Abhängigkeit vom Alter.

4.4.2.0. Proteingehalt (in mg/ml Homogenüberstand)

A - B	A - B	A - B	A - B
5,2 - 2,8	3,3 - 2,6	6,4 - 2,4	4,5 - 4,1
2,4 - 1,3	4,3 - 4,9	4,9 - 3,9	5,6 - 5,5
6,4 - 6,6	6,6 - 4,6	4,6 - 4,6	5,1 - 4,3
5,8 - 5,1	6,3 - 5,3	4,5 - 3,5	5,0 - 5,3
7,8 - 6,9	5,8 - 5,7	4,6 - 4,5	
5,7 - 5,9	4,6 - 8,8	5,0 - 4,2	

4.4.3.0. DNS-Gehalt (in µg/g Frischgewebe)

A - B	A - B	A - B	A - B
53 - 30	121 - 170	125 - 117	88 - 129
147 - 72	86 - 138	86 - 61	117 - 76
141 - 91	90 - 76	70 - 105	89 - 72
70 - 89	66 - 61	80 - 88	64 - 89

4.5.0.0. Korrelationsstatistische Einteilung

4.5.1.0. β -Acetylglucosaminidase / β -Glucuronidase (Abb. 17)

Hierzu wurden die im selben Homogenatüberstand gemessenen Aktivitäten beider Enzyme zusammengefaßt.

x = β -Acetylglucosaminidase (in mU)

y = β -Glucuronidase (in mU)

x - y	x - y	x - y	x - y
2,1 - 0,42	4,0 - 0,76	3,3 - 0,50	2,5 - 0,55
1,7 - 0,16	2,2 - 0,38	3,3 - 0,71	2,8 - 0,55
5,0 - 0,59	3,3 - 0,52	2,5 - 0,45	2,2 - 0,47
2,7 - 0,26	2,2 - 0,17	2,3 - 0,42	2,5 - 0,42
1,7 - 0,14	2,6 - 0,33	2,6 - 0,24	3,5 - 0,48
1,9 - 0,17	2,8 - 0,43	2,1 - 0,39	2,1 - 0,55
2,2 - 0,33	0,9 - 0,28	3,8 - 0,63	1,3 - 0,55
2,0 - 0,37	2,2 - 0,47	3,2 - 0,41	5,6 - 0,56
2,4 - 0,41	3,3 - 0,65	3,9 - 0,52	2,1 - 0,66
1,7 - 0,43	1,9 - 0,39	2,4 - 0,37	3,2 - 0,68
2,1 - 0,25	0,8 - 0,25	3,5 - 0,39	4,8 - 0,84
1,6 - 0,29	1,3 - 0,34	2,3 - 0,30	3,5 - 0,86
3,5 - 0,41	2,4 - 0,39	2,6 - 0,58	5,1 - 0,92
2,0 - 0,39	1,9 - 0,43	2,8 - 0,48	2,0 - 0,93
1,7 - 0,33	2,0 - 0,31	1,9 - 0,34	9,9 - 1,31
2,3 - 0,42	1,1 - 0,26	4,0 - 0,62	8,4 - 0,72
2,1 - 0,33	2,2 - 0,39	3,9 - 0,64	5,0 - 1,23
1,5 - 0,24	2,5 - 0,52	2,5 - 0,64	7,6 - 0,52
2,6 - 0,47	1,9 - 0,22	2,8 - 0,47	5,9 - 1,30
3,0 - 0,50	1,9 - 0,45	3,6 - 0,56	
2,3 - 0,59	2,9 - 0,64	3,2 - 0,43	

4.5.2.0. Enzymaktivitäten in zwei Bezugssystemen

Da festgestellt werden mußte, welchen Einfluß auf Enzymaktivitätsangaben DNS als Bezugsgröße gegenüber Protein hat, wurden Enzymaktivitäten in mU (y) den entsprechenden Aktivitätsangaben im DNS-Bezugssystem, ausgedrückt in Extinktion pro μg DNS (x), gegenübergestellt.

4.5.2.1. β -Glucuronidase (Abb. 18)

x = Extinktion/ μg DNS nach 2 Std. Inkubationszeit bei 37°C

y = mU (Bezugsgröße: Protein im Homogenüberstand)

x	-	y	x	-	y	x	-	y	x	-	y
0,041	-	0,42	0,037	-	0,43	0,021	-	0,33	0,015	-	0,17
0,098	-	0,71	0,032	-	0,41	0,035	-	0,24	0,035	-	0,33
0,033	-	0,59	0,012	-	0,25	0,052	-	0,47	0,042	-	0,43
0,021	-	0,16	0,029	-	0,29	0,044	-	0,50	0,020	-	0,28
0,032	-	0,26	0,027	-	0,37	0,044	-	0,59	0,043	-	0,47
0,022	-	0,14	0,033	-	0,41	0,069	-	0,64	0,054	-	0,55
0,025	-	0,17	0,043	-	0,39	0,079	-	0,76	0,051	-	0,39
0,033	-	0,37	0,052	-	0,30	0,027	-	0,38	0,042	-	0,55
0,021	-	0,39	0,027	-	0,42	0,029	-	0,47	0,050	-	0,65
0,017	-	0,41	0,028	-	0,58	0,041	-	0,52	0,022	-	0,24
0,039	-	0,63	0,037	-	0,48	0,066	-	0,56	0,048	-	0,50

4.5.2.2. β -Acetylglucosaminidase (Abb. 19)

x = Extinktion/ μg DNS nach 2 Std. Inkubationszeit bei 37°C

y = mU (Bezugsgröße: Protein im Homogenatüberstand)

x	-	y	x	-	y	x	-	y	x	-	y
0,42	-	2,1	0,31	-	1,7	0,29	-	2,1	0,54	-	2,6
0,95	-	3,3	0,50	-	3,2	0,46	-	1,5	0,62	-	3,2
0,49	-	5,0	0,20	-	2,1	0,61	-	2,6	0,14	-	0,9
0,48	-	1,7	0,33	-	1,6	0,57	-	3,0	0,41	-	2,2
0,50	-	2,7	0,47	-	2,4	0,38	-	2,3	0,51	-	2,5
0,34	-	1,7	0,60	-	3,5	0,56	-	2,5	0,54	-	1,9
0,41	-	1,9	0,81	-	3,5	0,32	-	2,2	0,46	-	2,8
0,40	-	2,0	0,83	-	2,3	0,36	-	2,8	0,58	-	3,5
0,25	-	2,1	0,32	-	2,3	0,53	-	3,3	0,38	-	2,6
0,16	-	2,4	0,27	-	2,6	0,87	-	3,6	0,67	-	3,3
0,48	-	3,8	0,45	-	2,8	0,42	-	2,2	0,68	-	5,9

5.0.0.0. STATISTIK

Die im vorhergehenden Abschnitt eingeteilten Meßwerte können natürlich nur Stichproben darstellen. Da aber Aussagen auf Grund dieser Stichproben notwendig sind, müssen durch jeweils entsprechende statistische Methoden möglichst viele im Zahlenmaterial enthaltene Informationen aufgedeckt werden.

Bei den Abbildungen 4 - 12 wurde auf die Einzeichnung der Mittelwerte und Streuungen verzichtet, um nicht durch rein zufällige Unterschiede den Betrachter optisch zu beeinflussen. Die errechneten Zahlen sind für den F- und t-Test in einer Tabelle zusammengefaßt. Beim paarweisen Vergleich und den korrelationsstatistischen Berechnungen sind die Ergebnisse auf den jeweiligen Abbildungen zu finden. Innerhalb dieses Abschnittes wurde auf Literaturhinweise verzichtet, da die hier angewandte Methodik sich nahezu in allen Fachbüchern verfolgen läßt. Eine zusammenfassende Übersicht der benutzten Quellen ist am Ende des Literaturverzeichnisses.

5.1.0.0. Berechnungsmethoden der Grundgrößen

Zur Feststellung der Signifikanz von Mittelwertunterschieden, mittleren Differenzen und Korrelationskoeffizienten war die Berechnung folgender Grundgrößen Vorbedingung.

5.1.1.0. Mittelwert

Zur Berechnung des Mittelwertes $\bar{x}$ einer Gruppe wurde die Summe $\sum x_i$ der Einzelwerte x_i dieser Gruppe durch die Anzahl N der Einzelwerte dividiert :

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{N} \quad (1)$$

5.1.2.0. Varianz

Um die Varianz s^2 als mittlere quadratische Streuung zu erhalten, wird die Summe aller quadrierten Differenzen zwischen den Einzelwerten x_i und dem Mittelwert $\bar{x}$ durch die Anzahl der Freiheitsgrade $FG = N - 1$ der jeweiligen Gruppe dividiert:

$$s^2 = \frac{S(x_i - \bar{x})^2}{N - 1}$$

Zur praktischen Berechnung wurde hier aus Gründen der Zweckmäßigkeit nach Feststellung der Summe der Quadrate der Einzelwerte Sx_i^2 folgende Formel benutzt:

$$s^2 = \frac{Sx_i^2 - \bar{x} \cdot Sx_i}{N - 1} \quad (2)$$

5.1.3.0. Standardabweichung

Die Standardabweichung s ist definitionsgemäß die Wurzel der Varianz s^2 . Auch hier wurde aus praktischen Gründen entsprechend Formel (2) folgendermaßen berechnet:

$$s = \sqrt{\frac{Sx_i^2 - \bar{x} \cdot Sx_i}{N - 1}} \quad (3)$$

5.1.4.0. Differenzen

Dazu wurde bei den unter 4.4.0.0. eingeteilten Gruppen bei jedem Paar der unter A stehende Wert von dem unter B stehenden subtrahiert. Von den so entstandenen Differenzengruppen konnten dann folgende Werte ermittelt werden.

5.1.4.1. Mittlere Differenz

Entsprechend Formel (1):

$$\bar{d} = \frac{Sd_i}{N}$$

5.1.4.2. Varianz

Entsprechend Formel (2) :

$$s_d^2 = \frac{Sd_i^2 - \bar{d} \cdot Sd_i}{N - 1}$$

5.1.4.3. Standardabweichung

Entsprechend Formel (3) :

$$s_d = \sqrt{\frac{Sd_i^2 - \bar{d} \cdot Sd_i}{N - 1}}$$

5.1.5.0. Korrelationen

Bei den unter 4.5.0.0. zusammengestellten Werten sollte untersucht werden, ob zwischen den Gruppen x und y Zusammenhänge bestehen. Dazu mußten zuerst folgende Berechnungen durchgeführt werden.

5.1.5.1. Korrelationskoeffizient

Zur Ermittlung des Korrelationskoeffizienten r wurde nachstehende Formel angewandt :

$$r = \frac{N \cdot Sxy - Sx \cdot Sy}{\sqrt{N \cdot Sx^2 - (Sx)^2 \cdot N \cdot Sy^2 - (Sy)^2}}$$

N = Anzahl der Wertepaare x - y

Sx = Summe aller Einzelwerte x

Sy = Summe aller Einzelwerte y

Sxy = Summe aller Produkte x · y

Sx² = Summe aller quadrierten Einzelwerte x

Sy² = Summe aller quadrierten Einzelwerte y

5.1.5.2. Regressionsgerade

Die in den Abbildungen 17 - 19 dargestellten Regressionsgeraden haben als Geraden im rechtwinkligen Koordinatensystem die allgemeine Gleichung $y = bx + a$.

Die Konstante b (Regressionskoeffizient) wurde nach folgender Formel berechnet:

$$b = \frac{S_{xy} - \bar{y} \cdot S_x}{S_x^2 - \bar{x} \cdot S_x}$$

Und für a galt:

$$a = \bar{y} - b \cdot \bar{x}$$

$\bar{x}$ = Mittelwert aller Werte x

$\bar{y}$ = Mittelwert aller Werte y

Die Berechnungen der Regressionsgeraden wurden hier durchgeführt, um den jeweiligen Abbildungen mittels dieser Geraden eine bessere Übersichtlichkeit zu geben. Im Sinne einer Einzelaussage hat eine Regression nur sehr beschränkte Bedeutung.

5.2.0.0. Bestimmungsmethoden der Irrtumswahrscheinlichkeiten

Um die Wahrscheinlichkeit p eines nicht signifikanten Unterschiedes festzustellen, wurden verschiedene Prüffunktionen benutzt. Der im einzelnen Falle mit Hilfe der Prüffunktion gewonnene Wert wurde dann mit Werten in entsprechenden statistischen Tafeln verglichen. Der Unterschied wurde schließlich nach der Höhe von p beurteilt:

als nicht signifikant, wenn $p > 0.05$;

als leicht signifikant, wenn $0.01 < p < 0.05$;

als signifikant, wenn $0.001 < p < 0.01$;

als hoch signifikant, wenn $p < 0.001$.

5.2.1.0. Vergleich der Standardabweichungen (F-Test)

Hier wurde folgende Prüffunktion benutzt:

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2}$$

s_1^2 bzw. s_2^2 = größere bzw. kleinere Varianz beider Gruppen

Freiheitsgrad des Zählers : $FG_1 = N_1 - 1$

Freiheitsgrad des Nenners : $FG_2 = N_2 - 1$

5.2.2.0. Vergleich der Mittelwerte (t-Test)

Von den hier zur Verfügung stehenden Testmöglichkeiten, auf deren spezielle Anwendungsgebiete in der Fachliteratur näher eingegangen wird, wurde die folgende als zweckmäßig betrachtet :

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{N_1} + \frac{s_2^2}{N_2}}}$$

$\bar{x}$ bzw. $\bar{x}_2$ = Mittelwert der ersten bzw. der zweiten Gruppe

s_1^2 und s_2^2 = Varianzen der zu vergleichenden Gruppen

N_1 und N_2 = Anzahl der Einzelwerte der Gruppen

Freiheitsgrad $FG = N_1 + N_2 - 2$

5.2.3.0. t-Test für paarweisen Vergleich

Hier galt dieser Prüfquotient :

$$t = \frac{\bar{d}}{\sqrt{\frac{s_d^2}{N}}}$$

$\bar{d}$ = Mittlere Differenz

s_d^2 = Varianz der Differenzengruppe

N = Anzahl der Differenzen

Freiheitsgrad $FG = N - 1$

5.2.4.0. Beurteilung des Korrelationskoeffizienten

Der Korrelationskoeffizient wurde auf signifikante Abweichung von Null geprüft mit der Formel:

$$t = \frac{|r|}{\sqrt{1 - r^2}} \cdot \sqrt{N - 2}$$

$|r|$ = absoluter Wert des Korrelationskoeffizienten

N = Anzahl der Wertepaare $x - y$

Freiheitsgrad $FG = N - 2$

TABELLE STATISTISCHER DATEN

EINTEILUNG	GRUPPEN		GRUNDGRÖßEN				VERGLEICH DER GRUPPEN:	F-TEST			t-TEST		
	BEZEICHNUNG		N	$\bar{x}$	s^2	s		F	FG	p	t	FG	p
4.1.1.1.	β -Glucuronidase	1-20	10	0,36	0,0202	0,142	1-20/21-40	1,09	9/9	>0,05	3,804	18	>0,4
		21-40	10	0,41	0,0185	0,136	1-20/41-60	2,17	9/13	>0,05	5,567	22	>0,5
		41-60	14	0,33	0,0096	0,098	1-20/>60	1,32	9/9	>0,05	1,609	18	>0,1
		21-40/41-60					21-40/41-60	1,93	9/13	>0,05	1,589	22	>0,1
		21-40/>60					21-40/>60	1,44	9/9	>0,05	0,893	18	>0,3
4.1.1.2.	β -Acetylglucosaminidase	1-20	10	1,78	0,5127	0,716	41-60/>60	2,77	9/13	>0,05	2,422	22	<0,05
		21-40	10	2,29	0,4886	0,699	1-20/21-40	1,05	9/9	>0,05	1,589	18	>0,1
		41-60	14	2,22	0,2873	0,536	1-20/41-60	1,79	9/13	>0,05	1,642	22	>0,1
		>60	10	2,75	1,1660	1,080	1-20/>60	2,28	9/9	>0,05	2,367	18	<0,05
		21-40/41-60					21-40/41-60	1,70	9/13	>0,05	0,228	22	>0,8
4.1.2.1.	β -Glucuronidase	A	44	0,39	0,0193	0,139	21-40/>60	2,39	9/9	>0,05	1,156	18	>0,2
		B	26	0,57	0,1056	0,325	41-60/>60	4,06	9/13	<0,05	1,431	22	>0,1
		C	8	0,66	0,0708	0,266	A / B	5,47	25/43	<0,001	2,686	68	<0,01
		D	4	0,79	0,0146	0,121	A / C	3,65	7/43	<0,01	2,802	50	<0,01
							A / D	1,32	43/3	>0,05	6,256	46	<0,001
4.1.2.2.	β -Acetylglucosaminidase	A	44	2,25	0,6500	0,812	B / C	1,49	25/7	>0,05	0,792	32	>0,4
		B	26	3,37	2,6420	1,625	B / D	7,23	25/3	<0,05	2,506	28	<0,05
		C	8	4,13	3,3489	1,830	C / D	4,85	7/3	>0,05	1,163	10	>0,2
		D	4	4,33	9,0625	3,010	A / B	4,00	25/43	<0,001	3,280	68	<0,01
							A / C	5,07	7/43	<0,001	2,855	50	<0,01
4.1.3.1.	β -Glucuronidase	I	11	0,39	0,0151	0,123	A / D	13,73	3/43	<0,001	1,377	46	>0,1
		II	8	0,21	0,0028	0,053	B / C	1,27	7/25	>0,05	1,054	32	>0,2
		III	25	0,45	0,0130	0,114	B / D	3,43	3/25	<0,05	0,624	28	>0,5
		I	11	1,94	0,6757	0,822	C / D	2,71	3/7	>0,05	0,122	10	>0,8
		II	8	1,82	0,0595	0,244	I / II	5,39	10/7	>0,05	4,545	17	<0,001
4.1.3.2.	β -Acetylglucosaminidase	III	25	2,53	0,6691	0,818	I / III	1,16	10/24	>0,05	1,379	34	>0,1
		I	11	0,39	0,0151	0,123	II / III	4,65	24/7	<0,05	8,136	31	<0,001
		II	8	0,21	0,0028	0,053	I / II	11,36	10/7	>0,05	0,457	17	>0,6
		III	25	0,45	0,0130	0,114	I / III	1,09	10/24	>0,05	1,986	34	>0,05
		I	11	1,94	0,6757	0,822	II / III	11,25	24/7	<0,01	3,838	31	<0,001
4.2.1.0.	PROTEIN	1-20	10	6,01	6,45	2,54	1-20/21-40	4,78	9/9	<0,05	1,245	18	>0,2
		21-40	10	4,90	1,35	1,16	1-20/41-60	6,08	9/13	<0,01	0,377	22	>0,7
		41-60	14	5,69	1,06	1,03	1-20/>60	4,54	9/9	<0,05	1,510	18	>0,1
		>60	10	4,67	1,42	1,19	21-40/41-60	1,27	9/13	>0,05	1,735	22	>0,05
							21-40/>60	1,05	9/9	>0,05	0,437	18	>0,6
4.2.2.0.	PROTEIN	A	44	5,35	2,538	1,593	41-60/>60	1,34	9/13	>0,05	2,141	22	<0,05
		B	26	4,55	2,481	1,575	A / B	1,02	43/25	>0,05	2,044	68	<0,05
		C	8	3,89	1,321	1,149	A / C	1,92	43/7	>0,05	3,093	50	<0,01
		D	4	4,03	2,589	1,609	A / D	1,02	3/43	>0,05	1,573	46	>0,1
							B / C	1,88	25/7	>0,05	1,293	32	>0,2
4.3.0.0.	DNS	0-1	8	307,9	6041,6	77,73	B / D	1,04	3/25	>0,05	0,603	28	>0,5
		2-30	7	95,7	207,5	14,41	C / D	1,96	7/3	>0,05	0,155	10	>0,8
		31-60	14	90,4	753,8	27,46	0=1 / 2-30	29,12	7/6	<0,001	7,573	13	<0,001
		>60	11	94,8	903,3	30,06	0-1/31-60	8,01	7/13	<0,001	7,647	20	<0,001
							0-1/>60	6,70	7/10	<0,01	7,364	17	<0,001

6. 0. 0. 0. ERGEBNISSE

6. 1. 0. 0. Aortengewicht in Abhängigkeit vom Alter :

Hierbei wurden die von 49 Aortenabschnitten ermittelten Gewichte in Abhängigkeit vom Alter in Abbildung 2 eingetragen. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde für das Gewicht der logarithmische Maßstab (Zehnerlogarithmus) gewählt. Man erkennt deutlich den kontinuierlichen Anstieg des Aortengewichtes von ca. 2 g bei Neugeborenen bis zu 40 - 50 g bei über 80jährigen.

Wegen der Augenfälligkeit und der allgemeinen Kenntnis dieses Befundes (87) wurde auf die statistische Bearbeitung des Zahlenmaterials verzichtet.

6. 2. 0. 0. Arteriosklerose in Abhängigkeit vom Alter :

Auch hier wurden 49 Aortenabschnitte untersucht (Methodik siehe 3. 1. 0. 0.). Abbildung 3 zeigt, daß im Alter von 0-20 Jahren keine (10 Punkte) oder nur geringe (11 Punkte) arteriosklerotische Veränderungen der Aorta zu finden sind, während im höheren Lebensalter starke Aortensklerose (über 20 Punkte) vorherrscht.

Auch hier wurde aus denselben Gründen wie oben auf weitere Statistik verzichtet.

6. 3. 0. 0. Enzymaktivitäten :

Die Werte der berechneten Grundgrößen der einzelnen Gruppen und die bei den statistischen Tests ermittelten Zahlen sind in der Tabelle zusammengefaßt.

6. 3. 1. 0. Enzymaktivitäten in Abhängigkeit vom Alter :

Die Messungen wurden an 44 Homogenatüberständen unveränderter Wandbezirke (Stadium A) durchgeführt. Die Einteilung in vier Altersgruppen ergab in jeder Gruppe und bei jedem Enzym annähernd symmetrische Verteilung der Werte.

6.3.1.1. β -Glucuronidase (Abb. 4) :

Die Aktivitäten lagen zwischen 0,14 und 0,76 mU. Beim Vergleich der Altersgruppen untereinander konnten folgende Unterschiede festgestellt werden :

- a) leicht signifikante Zunahme des Mittelwertes von der Gruppe "41 - 60 Jahre" zur Gruppe "über 60 Jahre" ;
- b) leicht signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen der Gruppen "41 - 60" und "über 60 Jahre".

Eine gerichtete Tendenz zur altersabhängigen Zu- oder Abnahme der β -Glucuronidase-Aktivität kann aufgrund dieser Ergebnisse nicht angenommen werden, da sie nicht gesichert ist.

6.3.1.2. β -Acetylglucosaminidase (Abb.5):

Die niedrigste Aktivität betrug hier 0,8, die höchste 5,0 mU. Zwischen den Altersgruppen ergaben sich folgende Unterschiede :

- a) leicht signifikante Zunahme des Mittelwertes von der Gruppe "1 - 20 Jahre" zur Gruppe "über 60 Jahre" ;
- b) leicht signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen der Gruppen "41 - 60" und "über 60 Jahre".

Auch hier kann über die Altersabhängigkeit dieselbe Aussage wie bei der β -Glucuronidase gemacht werden.

6.3.2.0. Enzymaktivitäten in Abhängigkeit von arteriosklerotischen Veränderungen :

Hier wurden je Enzym 82 Aktivitätsmessungen durchgeführt und die Ergebnisse in ein Normal- (A) und drei Arteriosklerosestadien (B, C, D) eingeteilt. Dabei wurde keine Rücksicht auf Altersklassen genommen, da die vorhergehende Prüfung auf Altersabhängigkeit bei beiden Enzymen keine deutliche Signifikanz erbracht hatte.

Gestützt wird der Befund der "Nicht-Altersabhängigkeit" dadurch,

daß die Werte des Stadiums A beider Enzyme nach Abbildung 6 und 7 als fast normalverteilt angesehen werden können. Bei der Verteilung der Werte der übrigen Stadien konnte Symmetrie festgestellt werden.

6.3.2.1. β -Glucuronidase (Abb. 6):

Es ergaben sich folgende Unterschiede:

- a) signifikante Zunahme des Mittelwertes von Stadium A nach Stadium B,
- b) signifikante Zunahme des Mittelwertes von Stadium A nach Stadium C,
- c) hoch signifikante Zunahme des Mittelwertes von Stadium A nach Stadium D,
- d) leicht signifikante Zunahme des Mittelwertes von Stadium B nach Stadium D,
- e) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen der Stadien A und B,
- f) signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen der Stadien A und D,
- g) leicht signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen der Stadien B und D.

Die Art und Mannigfaltigkeit dieser Unterschiede läßt gut erkennen, daß bei arteriosklerotischen Wandbezirken eine deutliche Erhöhung der β -Glucuronidase-Aktivität gegenüber normalen Bezirken vorhanden ist. In welchem Maße diese Erhöhung mit zunehmendem Arteriosklerosegrad fortgesetzt wird, kann trotz stetiger Zunahme des Mittelwertes von Stadium A bis Stadium C statistisch nicht eindeutig beurteilt werden.

6.3.2.2. β -Acetylglucosaminidase (Abb. 7):

Die statistische Berechnung ergab:

- a) signifikante Zunahme des Mittelwertes von Stadium A nach Stadium B,
- b) signifikante Zunahme des Mittelwertes von Stadium A nach Stadium C,
- c) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen der Stadien A und B,
- d) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen der Stadien A und C,
- e) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen der Stadien A und D,
- f) leicht signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen der Stadien B und D.

Auch hier lassen die Ergebnisse die gleiche Aussage über den Enzymaktivitätsanstieg mit beginnender bzw. zunehmender Arteriosklerose zu wie bei der β -Glucuronidase.

6. 3. 3. 0. Enzymaktivitäten in Abhängigkeit vom Zustand der Restaorta :

Die Untersuchung des Zahlenmaterials erfolgte hierbei in der Absicht, eventuelle Frühstadien, die sich der makroskopischen Beurteilung entziehen, zu erfassen, bzw. eine mögliche Abhängigkeit der Enzymaktivitäten unveränderter Bezirke vom arteriosklerotischen Zustand der restlichen Aorte festzustellen. Deshalb wurden die Werte von Stadium A nach drei Gesichtspunkten aufgegliedert (siehe 4. 1. 3. 0.).

Die statistische Untersuchung ergab im einzelnen :

6. 3. 3. 1. β -Glucuronidase (Abb. 8) :

- a) hoch signifikante Abnahme des Mittelwertes von Gruppe I nach Gruppe II,
- b) hoch signifikante Zunahme des Mittelwertes von Gruppe II nach Gruppe III,

- c) leicht signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen der Gruppen I und II,
- d) leicht signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen der Gruppen II und III.

6.3.3.2. β -Acetylglucosaminidase (Abb. 9)

- a) hoch signifikante Zunahme des Mittelwertes von Gruppe II nach Gruppe III,
- b) signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen der Gruppen I und II,
- c) signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen der Gruppen II und III.

6.4.0.0. Proteingehalt :

6.4.1.0. Proteingehalt in Abhängigkeit vom Alter (Abb. 10) :

Die in 44 Homogenatüberständen unveränderter Aortenabschnitte gemessenen Proteingehalte (2,4 - 11,3 mg/ml) wurden in vier Altersgruppen eingeteilt, die folgende statistisch gesicherte Unterschiede zeigten :

- a) leicht signifikante Abnahme des Mittelwertes von der Gruppe "41 - 60 Jahre" zur Gruppe "über 60 Jahre".
- b) leicht signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen der Gruppen "1 - 20" und "21 - 40 Jahre",
- c) signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen der Gruppen "1 - 20" und "41 - 60 Jahre",
- d) leicht signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen der Gruppen "1 - 20" und "über 60 Jahre".

Auch hier ist - wie bei den Enzymaktivitäten - eine deutliche Zu- oder Abnahme mit dem Alter nicht registrierbar.

6.4.2.0. Proteingehalt in Abhängigkeit von arteriosklerotischen Veränderungen (Abb. 11):

Die Einteilung der in 82 Homogenatüberständen ermittelten Proteingehalte (1,8-11,3 mg/ml) in die bekannten vier Stadien ergab:

- a) leicht signifikante Abnahme des Mittelwertes von Stadium A nach Stadium B,
- b) signifikante Abnahme des Mittelwertes von Stadium A nach Stadium C.

6.5.0.0. DNS-Gehalt in Abhängigkeit vom Alter (Abb. 12):

Die DNS-Bestimmung wurde an 40 Proben unveränderter Aortenabschnitte durchgeführt. Die erhaltenen Werte lagen zwischen 52 und 455 µg DNS pro g Frischgewebe, die Einteilung erfolgte in vier Altersgruppen. Die statistische Untersuchung ergab:

- a) hoch signifikante Abnahme des Mittelwertes von der Gruppe "0 - 1 Jahre" zur Gruppe "2 - 30 Jahre",
- b) hoch signifikante Abnahme des Mittelwertes von der Gruppe "0 - 1 Jahre" zur Gruppe "31 - 60 Jahre",
- c) hoch signifikante Abnahme des Mittelwertes von der Gruppe "0 - 1 Jahre" zur Gruppe "über 60 Jahre",
- d) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen der Gruppen "0 - 1" und "2 - 30 Jahre",
- e) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen der Gruppen "0 - 1" und "31 - 60 Jahre",
- f) signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen der Gruppen "0 - 1" und "über 60 Jahre",
- g) leicht signifikanter Unterschied zwischen den Standardabweichungen der Gruppen "2 - 30" und "über 60 Jahre".

Diese statistischen Signifikanzen lassen den erheblichen Abfall des DNS-Gehaltes nach dem ersten Lebensjahr erkennen, während im Laufe des weiteren Lebens der DNS-Gehalt - innerhalb eines gewissen Schwankungsbereiches - konstant bleibt.

6. 6. 0. 0. Ergebnisse der paarweisen Vergleiche :

In den Fällen, in denen Enzymaktivitäten, Protein- oder DNS-Gehalte an einer Aorta in Wandabschnitten des Stadiums A (normal) und des Stadiums B (Lipoidose) gleichzeitig bestimmt werden konnten, erfolgte eine Interpretation durch Bildung der Differenzen zwischen den aus beiden Stadien gewonnenen Zahlen (siehe 4. 4. 0. 0.).

6. 6. 1. 0. Enzymaktivitäten :

Pro Enzym konnten 22 Differenzen gebildet werden, die wie folgt zu beurteilen sind :

6. 6. 1. 1. β -Glucuronidase (Abb. 13) :

Bei einer mittleren Differenz von + 0,143 mU war die Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 0.005$. Der Anstieg der β -Glucuronidase-Aktivität von Stadium A nach Stadium B darf also als fast hoch signifikant bezeichnet werden.

6. 6. 1. 2. β -Acetylglucosaminidase (Abb. 14) :

Die mittlere Differenz wurde mit + 0,886 mU errechnet. Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0.001$ ist hier der Anstieg der Enzymaktivität hoch signifikant.

6. 6. 2. 0. Proteingehalt (Abb. 15) :

Auch hier wurden 22 Differenzen berechnet. Die mittlere Differenz war - 0,523 mg/ml Homogenatüberstand. Da die Irrtumswahrscheinlichkeit $p > 0.1$ war, ist die Abnahme des Proteingehaltes als nicht signifikant zu betrachten.

6. 6. 3. 0. DNS-Gehalt (Abb. 16) :

Hier standen 16 Differenzen zur Verfügung, deren mittlere - 1,813 $\mu\text{g/g}$ Frischgewebe war. Eine Abnahme des DNS-Gehaltes ist mit hoher Wahrscheinlichkeit $p > 0.8$ nicht signifikant.

6. 7. 0. 0. Ergebnisse der Korrelationsstatistik :

6. 7. 1. 0. Korrelation zwischen β -Acetylglucosaminidase und β -Glucuronidase (Abb. 17) :

Um ein gleichsinniges Verhalten beider Enzyme festzustellen, wurden 82 Wertepaare korrelationsstatistisch bearbeitet. Der Korrelationskoeffizient wurde mit $r = 0,688$ berechnet. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0.001$ darf somit das Verhalten beider Enzyme als hoch korreliert betrachtet werden. Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde hier und in den folgenden Fällen eine Regressionsgerade berechnet und in die Abbildungen eingezeichnet. Ihre Gleichung lautet in diesem Falle : $y = 0,103 x + 0,103$.

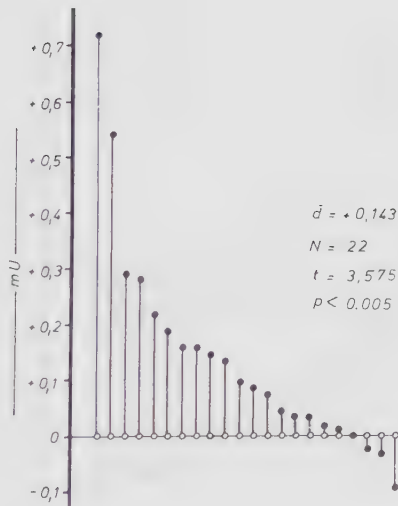
6. 7. 2. 0. Korrelationen zwischen Enzymaktivitäten in zwei verschiedenen Bezugssystemen :

Hier sollte festgestellt werden, ob Enzymaktivitäten in mU (Bezugsgröße : Proteingehalt) sich wesentlich anders verhalten, als Enzymaktivitäten, die auf DNS-Gehalt bezogen sind.

6. 7. 2. 1. β -Glucuronidase (Abb. 18) :

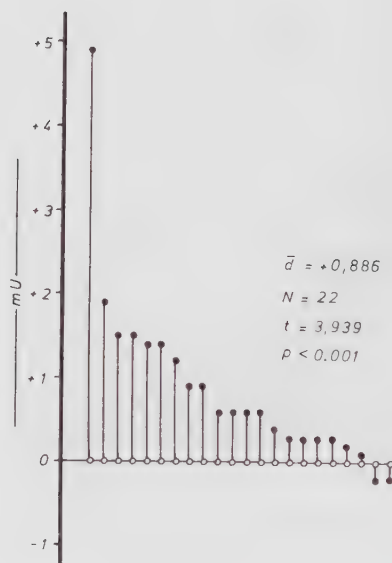
Bei 44 Wertepaaren konnte $r = 0,723$ bestimmt werden, was eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0.001$ ergab. Die Aussage, daß es unwesentlich ist, ob in der Aortenwand Proteingehalt im Homogenatüberstand oder DNS-Gehalt im Frischgewebe als Bezugsgrößen für Enzymaktivitätsangaben der β -Glucuronidase verwandt werden, darf hiermit als mit hoher Wahrscheinlichkeit zutreffend angenommen werden. Die Regressionsgerade ist : $y = 6,39 x + 0,18$.

Abbildung 13



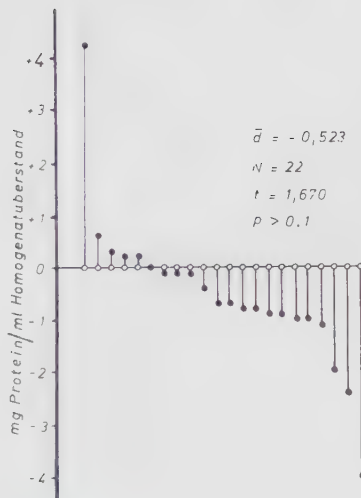
Darstellung der der Größe nach geordneten Differenzen zwischen β -Glucuronidase-Aktivitäten in normalen und lipoidotisch veränderten Wandbezirken derselben Aorta und der Daten ihrer statistischen Bearbeitung.

Abbildung 14



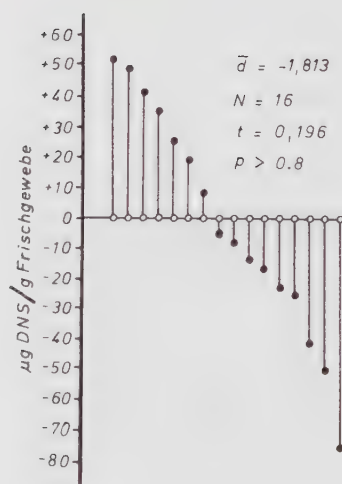
Darstellung der der Größe nach geordneten Differenzen zwischen β -Acetylglucosaminidase-Aktivitäten in normalen und lipoidotisch veränderten Wandbezirken derselben Aorta und der Daten ihrer statistischen Bearbeitung.

Abbildung 15



Darstellung der der Größe nach geordneten Differenzen zwischen Proteingehalten normaler und lipidotisch veränderter Wandbezirke derselben Aorta und der Daten der statistischen Bearbeitung.

Abbildung 16

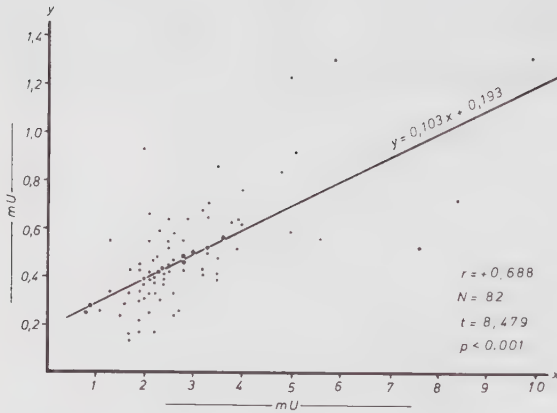


Darstellung der der Größe nach geordneten Differenzen zwischen DNS-Gehalten normaler und lipoidotisch veränderter Wandbezirke derselben Aorta und der Daten ihrer statistischen Bearbeitung.

6. 7. 2. 2. β -Acetylglucosaminidase (Abb. 19) :

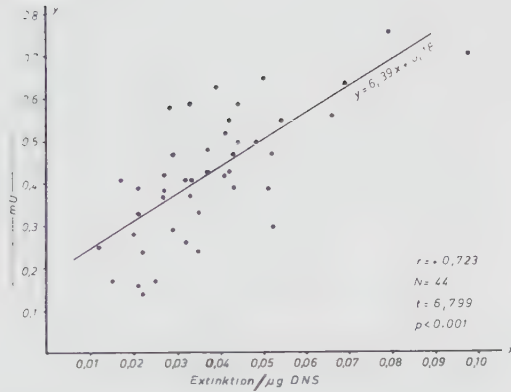
Auch hier wurden wie oben 44 Wertepaare untersucht. Folgende Ergebnisse konnten ermittelt werden: $r = 0,548$, $p < 0,001$, Regressionsgerade: $y = 2,75 x + 1,34$. Dieselbe Aussage wie bei der β -Glucuronidase darf also auch hier gemacht werden.

Abbildung 17



Korrelationsstatistische Darstellung des gleichsinnigen Verhaltens von β -Acetylglucosaminidase (x) und β -Glucuronidase (y) in der Aortenwand.

Abbildung 18

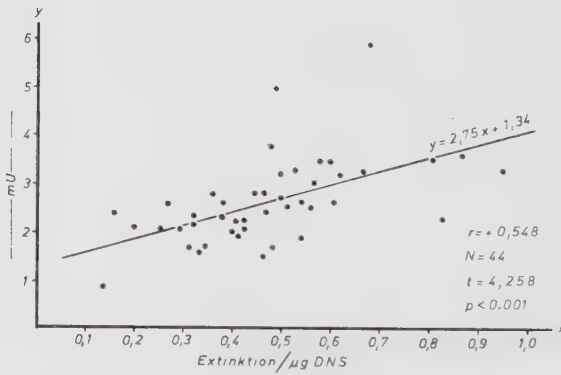


Korrelation zwischen Enzymaktivitätsangaben der β -Glucuronidase in zwei verschiedenen Bezugssystemen :

x-Werte : DNS-Gehalt als Bezugsgröße,

y-Werte : Proteingehalt als Bezugsgröße.

Abbildung 19



Korrelation zwischen Enzymaktivitätsangaben der
β-Acetylglucosaminidase in zwei verschiedenen
Bezugssystemen :

x-Werte : DNS-Gehalt als Bezugsgröße,

y-Werte : Proteingehalt als Bezugsgröße.

7. 0. 0. 0. DISKUSSION

Wichtig für die Angaben von Enzymaktivitäten ist das jeweilige Bezugssystem (Extraktprotein, DNS-Gehalt, Frischgewicht, Trockengewicht). PLATT und DORN (40, 96, 97) konnten zeigen, daß bei der β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase im menschlichen hyalinen Knorpel Aussagen über altersbedingte Aktivitätsänderungen wesentlich von den Bezugsgrößen abhängen (DNS- oder Proteingehalt), und nach KRESSE und BUDDECKE (68, 69) soll bei Enzymaktivitätsbestimmungen im Aortengewebe dem DNS-Gehalt als Bezugsgröße der Vorzug gegeben werden.

Da bei den vorliegenden Untersuchungen aus methodischen Gründen der DNS-Gehalt nicht in allen Gewebeproben bestimmt werden konnte, Proteingehaltmessungen aber in jedem Homogenatüberstand durchführbar waren, mußte gezeigt werden, daß bei Aktivitätsangaben der β -Glucuronidase und der β -Acetylglucosaminidase in der Aorta Proteingehalt im Homogenatüberstand (extrahierbares Protein) und DNS-Gehalt des Frischgewebes als Bezugsgrößen in jedem Falle gleichrangig sind.

Dazu wurden die in den Homogenatüberständen gemessenen Enzymaktivitäten sowohl in mU (Bezugsgröße : Protein) als auch in Extinktionen pro μ g DNS im Frischgewebe ausgedrückt. Die statistische Berechnung ergibt bei jedem Enzym hoch signifikante Korrelationen zwischen den Aktivitäten in beiden Bezugssystemen.

Diese Befunde werden durch Untersuchungen der Protein- und DNS-Gehalte in Abhängigkeit vom Alter und arteriosklerotischen Veränderungen gestützt.

Die Proteingehalte unveränderter Aortenbezirke zeigen trotz signifikanter Streuungsunterschiede zwischen der ersten und allen übrigen Altersgruppen keine deutlichen altersabhängigen Unterschiede der Mittelwerte, - lediglich eine leicht signifikante Abnahme von der vorletzten (41 - 60 Jahre) zur letzten Altersgruppe (über 60 Jahre) ist zu registrieren. In Abhängigkeit von arteriosklerotischen

Veränderungen ergibt sich zwar bei Vergleichen zwischen den einzelnen Stadien neben einer leicht signifikanten Abnahme des Proteingehaltes von Stadium A (unverändert) nach Stadium B (Lipoidose) eine signifikante Abnahme von A nach C (MPS-Plaques, Atherome), doch werden diese Verhältnisse beim Vergleich der Proteingehalte der ersten beiden Stadien, die von derselben Aorta stammen, nicht mehr angetroffen. Nur die Abnahme des extrahierbaren Proteingehaltes von unveränderten Aortenbezirken (A) nach atheromatösen (C) darf somit als gesichert angesehen werden.

Dieser Befund bestätigt die Ergebnisse von PLATT, BENEKE und BUDDECKE (95) und läßt die Vermutung zu, daß es sich bei den in arteriosklerotisch veränderten Aorten histochemisch vermehrt gefundenen Proteinen hauptsächlich um unlösliche Strukturproteine handeln dürfte.

Die hier ermittelten altersbedingten Verhältnisse der DNS-Gehalte der Aortenwand stimmen weitgehend mit den von einigen Autoren gemachten Angaben über DNS-Gehalte verschiedener Gewebe menschlichen und tierischen Ursprungs überein (40, 53, 69, 96, 97): Es findet sich ein hoch signifikanter Abfall des DNS-Gehaltes von der ersten Altersgruppe (0 - 1 Jahr) zu allen anderen Gruppen. Bemerkenswert ist dabei auch eine signifikante bzw. hoch signifikante Abnahme der Standardabweichung nach dem ersten Lebensjahr, wie sie ähnlich - nur um eine Altersgruppe verschoben - auch beim Proteingehalt zu beobachten ist. Die Erhöhung des DNS-Gehaltes im ersten Lebensjahr ist im Rahmen dieser Arbeit von untergeordneter Bedeutung, da wegen zu geringen Ausgangsmaterials bei Aorten dieses Alters keine Bestimmungen der Proteingehalte und der Enzymaktivitäten durchgeführt werden konnten.

Untersuchungen über arteriosklerotisch bedingte Änderungen des DNS-Gehaltes wurden nur in den ersten beiden Stadien vorgenommen, da hier genügend Ausgangsmaterial vorlag. Beim paarweisen Vergleich zwischen unveränderten Aortenbezirken und Lipoidose-Herden konnte kein Unterschied des DNS-Gehaltes festgestellt werden.

Die Ergebnisse aller Untersuchungen über das Verhalten des extrahierbaren Proteins und der DNS in der Aortenwand in Abhängigkeit vom Alter und von der Aortensklerose, zeigen im Zusammenhang mit den als hoch signifikant ermittelten Korrelationen von β -Glucuronidase- und β -Acetylglucosaminidase-Aktivitäten in zwei Bezugssystemen, daß im Rahmen der hier angewandten Methodik Enzymaktivitätsangaben in spezifischen Einheiten (mU), bei denen Protein im Homogenatüberstand Bezugsgröße ist, auch bei Vorliegen altersbedingter und arteriosklerotischer Verhältnisse Aussagen über die katabole Stoffwechselkapazität der sauren Mucopolysaccharide darstellen.

Wie groß aber jeweils die Enzymmenge ist, die in freier Form vorliegt und damit am MPS-Stoffwechsel direkt beteiligt ist, kann bei Untersuchungen an Leichenorganen nicht ohne weiteres festgestellt werden, da die sauren Glycosaminoglycano-Hydrolasen lysosomaler Herkunft sind und wegen der postmortal rasch einsetzenden Durchlässigkeit der Lysosomenwand für die in den Lysosomen lokalisierten Enzyme eine Trennung der Gesamtaktivität in freie und gebundene Aktivität nicht möglich ist (70).

HELD, HOEFELE et al. (50) konnten aber aus der Differenz zwischen möglicher und tatsächlicher Abbaurate des Chondroitinsulfats folgern, daß die Enzymmenge, die den Abbau des Substrats katalysiert ("effektive Enzymkonzentration"), in der Größenordnung von einigen Prozent der lysosomalen, latenten Aktivität liegt. Deshalb ist die Interpretation der Änderung der Gesamtaktivität als Änderung des sauren MPS-Stoffwechsels nur im Zusammenhang mit anderen Befunden über den Stoffwechsel der sauren MPS zulässig (69).

Grundsätzlich besteht bei der Untersuchung der altersabhängigen, physiologischen Veränderungen der Aorta die Schwierigkeit, im mittleren und höheren Lebensalter morphologisch vollkommen arteriosklerosefreie Wandbezirke zu erhalten. Da aber rein altersabhängige Stoffwechseländerungen der sauren MPS nur an unverän-

derten Aortenabschnitten zu finden sind (101), die genaue Klassifizierung "unverändert" jedoch allein bei mikroskopischer Beurteilung möglich ist, aber bei Homogenatherstellungen aus technischen Gründen nicht durchgeführt werden kann, ist die Beurteilung und Auswahl der Gewebeproben nach makroskopischen Gesichtspunkten hier zwangsläufig notwendig. Dabei auftretende Fehlbeurteilungen müssen allerdings in Kauf genommen werden (95).

Bekannt ist die mit dem Alter korrelierte Zunahme der Metachromotropie des Aortengewebes (6, 21, 78 u. a.). Obwohl auf Grund dieses histochemischen Befundes eine Zunahme der sauren MPS - als chemisches Äquivalent der chromotropen Substanz (7, 114, 117) - zu postulieren ist, liegen doch zum Teil uneinheitliche Ergebnisse biochemischer Untersuchungen vor (6, 77, 95). Die Mehrzahl der Untersuchungen zeigt jedoch, daß es auch ohne die Entwicklung einer Arteriosklerose zu einer Vermehrung der sauren MPS im Alter kommt (6, 16, 21, 67, 72, u. a.). Wichtig ist dabei die Tatsache, daß gleichzeitig mit der erhöhten Ablagerung eine qualitative Verschiebung der Konzentrationen der sauren MPS untereinander eintritt. Während die Konzentrationen von Hyalurensäure und Chondroitinsulfat C altersabhängig abnehmen, sind bei Chondroitinsulfat B und Heparitinsulfat Konzentrationsanstiege bemerkbar (21, 67, 72). Da BUDDECKE und PLATT (27) die beiden zuletzt erwähnten MPS als Substrate der Hyaluronidase ausschließen konnten, die Hyaluronidase-Wirkung aber Vorbedingung für die enzymatische Wirkung der β -Glucuronidase und Acetylglucosaminidase ist (2, 74, 80, 86), steht die bis zum 60. Lebensjahr als unverändert beobachtete Aktivität dieser beiden Glycosaminoglycano-Hydrolasen nicht in Widerspruch zu der durch Inkorporationsversuche mit radioaktiven Substanzen ermittelten altersabhängig verminderten Syntheserate der sauren MPS (12, 42, 48, 53). Die in der letzten Altersgruppe leicht signifikanten Aktivitätserhöhungen beider Enzyme könnten vielleicht mitverantwortlich für die nach dem 60. Lebensjahr registrierte Abnahme der Hyaluronsäure- und Chondroitinsulfat C-Konzentration sein (21).

Das hier an normalen Aortenbezirken beobachtete altersabhängige Verhalten der β -Glucuronidas und Acetylglucosaminidase stimmt weitgehend mit den von KRESSE und BUDDECKE (69) erhobenen Befunden an Rinderaorten, die bekanntlich keine Arteriosklerose zeigen, überein.

Die Vielzahl der makroskopischen Erscheinungsformen der Arteriosklerose (13, 14) erfordert für die Bezugnahme der Ergebnisse biochemischer Untersuchungen eine möglichst objektive Klassifizierung, die, wenn sie der in Phasen ablaufenden Pathogenese der Aortensklerose gerecht werden will, eine Einteilung des Untersuchungsgutes in exakt abgegrenzte Stadien beinhalten muß. Dabei soll das nachfolgende Stadium gegenüber dem vorhergehenden im morphologischen Krankheitsbild hier speziell der Aortensklerose eine Steigerung darstellen, um die Korrelation zwischen gemessenen Enzymaktivitäten und zunehmender Arteriosklerose zu ermöglichen.

Diese Forderungen dürften durch die von MCGILL et al. (81) beschriebene Einteilung, die neben der normalen, arteriosklerosefreien Gefäßwand noch drei Schweregrade arteriosklerotischer Veränderungen vorsieht, erfüllt werden. Obwohl auch hier wegen der makroskopischen Beurteilung subjektive Einflüsse nicht vollkommen auszuschalten sind, ist doch durch die detaillierte Beschreibung der einzelnen Stadien eine jederzeit reproduzierbare Einordnung der einzelnen Aortenabschnitte in die entsprechenden Stadien möglich. Gleichzeitig ist damit auch die Grundlage für die quantitative Erfassung der Gesamtheit aller arteriosklerotischen Veränderungen eines größeren Aortenabschnittes gegeben. Die Zulässigkeit der dabei benutzten Methodik, arteriosklerotische Wandbezirke je nach Größe und Stadium mit Punkten zu bewerten, um mit der Summe ein Maß für die Gesamtarteriosklerose zu gewinnen, wird durch die Ergebnisse, die den bekannten Befund der Arteriosklerosezunahme mit steigendem Alter deutlich wiedergeben, gerechtfertigt.

Die in den Homogenatüberständen normaler und arteriosklerotischer Aortenbezirke gemessenen Enzymaktivitäten zeigen untereinander sowohl bei den Streuungen als auch bei den Mittelwerten der einzelnen Stadien Unterschiede, die nicht mehr als zufällig angesehen werden können. Während signifikante Streuungsunterschiede verschiedene Populationen anzeigen, lassen die statistischen Vergleiche der Mittelwerte erkennen, daß mit zunehmendem Arteriosklerosegrad eine Erhöhung bzw. keine Abnahme der Enzymaktivitäten eintritt. Am deutlichsten bringt der Vergleich zwischen Aktivitäten von normalen und im Sinne einer Lipoidose veränderten Wandbezirken derselben Aorta die Aktivitätszunahmen der β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase zum Ausdruck. Daß diese Aktivitätssteigerungen beider Enzyme für erhöhten Stoffwechsel der sauren MPS sprechen, wird durch eine Anzahl von Befunden anderer Autoren wahrscheinlich gemacht (6, 7, 11, 12, 21, 27, 48, 57, 71, 77, 78, 93, 99-103, 113, 114, 117 u. a.).

Da HAUSS und JUNGE-HÜLSING (49) im Tierexperiment zeigen konnten, daß vor dem Auftreten morphologischer Gefäßwandveränderungen der Einbau von $^{35}\text{SO}_4$ in die Gefäßwand gesteigert ist, und auf Grund anderer Befunde (63, 108) die Forderung nach Untersuchungen arteriosklerotischer Frühstadien besteht, wurde der Frage nachgegangen, ob makroskopisch nicht erfaßbare Vorstadien der Aortensklerose mit Aktivitätsänderungen der beiden hier untersuchten Enzyme einhergehen. Unter der Voraussetzung der Neigung der Arteriosklerose zur Progredienz ist es daher vertretbar, primär als makroskopisch normal zu bezeichnende Aortenabschnitte sekundär nach dem arteriosklerotischen Zustand der Restaorta einzustufen, zumal eine signifikante altersabhängige Zu- oder Abnahme der Enzymaktivitäten dieser Abschnitte nicht vorliegt.

Die Ergebnisse zeigen, daß es in den Aorten, in denen minimale Veränderungen in Form von kleinen Lipoidose-Herden vorhanden sind, in allen unveränderten Bezirken bei der β -Glucuronidase zu einer hoch signifikanten Aktivitätsabnahme und bei der β -Acetylglu-

cosaminidase zu einer signifikanten Verringerung der Streuung gegenüber den Aktivitäten völlig unveränderter Aorten kommt, während bei stärkerem arteriosklerotischem Befall der Restaorta bei beiden Enzymen wieder hoch signifikante Aktivitätsanstiege zu verzeichnen sind. Zusammen mit dem oben erwähnten gesteigerten $^{35}\text{SO}_4$ -Einbau (49) lassen diese Befunde vermuten, daß vor den morphologisch sichtbaren Umbauvorgängen der Gefäßwand Änderungen im Stoffwechsel der sauren MPS auftreten, die bei gesteigerter Synthese und vermindertem Abbau eine Konzentrationserhöhung der sauren MPS zur Folge haben müßten. Unter der Berücksichtigung der Befunde von COHN und PARKS (35, 36) und PLATT und SCHNORR (104) kann angenommen werden, daß die vermehrt synthetisierten sauren MPS zu einer reaktiven Aktivitätserhöhung der sauren Glycosaminoglycano-Hydrolasen führen.

In Anbetracht der Notwendigkeit der Hyaluronidase für den katabolen MPS-Stoffwechsel (2, 31, 74, 80, 86, 98) kann eine endgültige Interpretation der Aktivitätsänderungen der übrigen sauren Glycosaminoglycano-Hydrolasen nur erfolgen, wenn gleichzeitig Angaben über die Hyaluronidase-Aktivitäten vorhanden sind. Daß in den Homogenatüberständen keine Hyaluronidase-Aktivität nachweisbar war, beweist nicht das Fehlen dieses Enzyms in menschlichen Aorten. Da BUD-DECKE und PLATT (27) Hyaluronidase aus Rinderaorten anreichern konnten, PLATT (93) in Menschengaorten mit Hilfe von Reinigungsschritten erhöhte Hyaluronidase-Aktivitäten mit zunehmender Arteriosklerose fand, und die meisten der bisher erwähnten Untersuchungen des Stoffwechsels der sauren MPS ein der Hyaluronidase ähnliches Enzym postulieren, kann die Existenz der Hyaluronidase ohne weiteres in eine Arbeitshypothese über Funktion der sauren Glycosaminoglycano-Hydrolasen in der Pathogenese der Arteriosklerose miteinbezogen werden.

8. 0. 0. 0. SCHLUSSFOLGERUNGEN

Die interzellulär gelegenen Mucopolysaccharid-Protein-Komplexe sind auf Grund ihrer Eigenschaften von wesentlicher Bedeutung für Struktur und Funktion der Gefäßwand. Da sie aber als Stoffwechselsysteme mit hohen Umsatzraten empfindliche Indikatoren für Stoffwechselstörungen sind (BUDDECKE, 21), könnte das die relativ große Bereitschaft der Gefäßwand zur Ausbildung pathologischer Zustände erklären. Diese Bereitschaft wird umso größer, je mehr mit zunehmendem Alter Umbauvorgänge in der Gefäßwand eine Verlängerung der Diffusionsstrecke zwischen Blutstrom und Wandzellen herbeiführen, und sie hat ihr Maximum erreicht, wenn bei der sogenannten "kritischen Schichtdicke" gerade noch eine ausreichende Energieversorgung gewährleistet ist. Wegen der dabei bestehenden Labilität des Stoffwechsels kann natürlich jede hinzukommende unspezifische Noxe eine Ernährungsinsuffizienz des Gewebes hervorrufen. Der daraus resultierende Energiemangel könnte zuerst alle anderen Synthesevorgänge reduzieren, während die Produktion der sauren MPS weiter aufrechterhalten wird, weil deren Bildung und Bedeutung im Stoffwechsel und der Funktion der Gefäßwand an erster Stelle stehen (HILZ, 54). Dadurch kommt es zur einseitigen Vermehrung von sauren MPS, die, wenn sie nicht allzu stark ist, durch Induktion die Synthese und Bereitstellung von depolymerisierenden Enzymen herbeiführt und somit kompensiert wird. Im anderen Falle durch Überschreiten der kritischen Schichtdicke die sowieso ungünstige Ernährungssituation soweit verschlechtert, daß Zelluntergänge die Folge sind und lysosomale Enzyme in den Interzellularraum gelangen. Von diesen Enzymen könnten die sauren Glycosaminoglycano-Hydrolasen die Depolymerisation der sauren MPS katalysieren und Proteasen gleichzeitig die Proteinkomponente abspalten. Das dadurch freiwerdende Wasser könnte zum morphologischen Bild des Initialoedems beitragen, darüber hinaus wäre durch Verlust des Molekularsiebeffektes kleineren Molekülen die Passage in die Gefäßwand ermöglicht, und bei weiter gesteigerter Permeabilität könnte die Komplexbildung zwischen Plasma- β -Lipoproteiden und MPS (45) die Entstehung von Lipoidose-Herden begünstigen.

9. 0. 0. 0. ZUSAMMENFASSUNG

1. Abschnitte der menschlichen Aorta (Herzbasis bis truncus coeliacus) wurden nach makroskopischen Gesichtspunkten in normale und arteriosklerotisch veränderte Bezirke zerlegt, in denen β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase-Aktivität, Protein- und DNS-Gehalt bestimmt wurden.
2. Altersbedingte signifikante Änderungen der β -Glucuronidase- und β -Acetylglucosaminidase-Aktivität konnten nicht festgestellt werden.
3. Mit zunehmender Arteriosklerose ergaben sich hoch signifikante Steigerungen der Enzymaktivitäten.
4. Durch Bezugnahme auf den arteriosklerotischen Zustand der Restaorta konnten in makroskopisch unveränderten Bezirken hoch signifikante Enzymaktivitätsänderungen beobachtet werden.
5. Die Untersuchung von Protein- und DNS-Gehalt in Abhängigkeit von Alter und Arteriosklerose zeigte zusammen mit hoch signifikanten Korrelationen von Enzymaktivitäten im Protein- und DNS-Bezugssystem, daß im Aortengewebe Enzymaktivitätsangaben in beiden Bezugssystemen die gleiche Aussagekraft haben.
6. Möglichkeiten der Bedeutung der sauren Glycosaminoglycano-Hydrolasen in der Pathogenese der Arteriosklerose wurden diskutiert.

10. 0. 0. 0. LITERATURVERZEICHNIS

1. ANDERSON, M., A. R. P. WALKER, W. LUTZ and J. HIGGINSON:
Chemical and pathological studies on aortic atherosclerosis.
Arch. Path. 68, 380 (1959)
2. ARONSON, N. N. and E. A. DAVIDSON:
Lysosomal hyaluronidase.
j. biol. Chem. 240, PC 3222 (1965)
3. BENITZ, K. - F. :
Zur Histochemie der sogenannten experimentellen Arteriosklerose.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmacol. 223, 420 (1954)
4. BERNFELD, P. :
in E. A. Balazs and R. W. Jeanloz: The Amino Sugars,
vol. 2 B, 213. New York - London, Academ. Press (1966)
5. BERNFELD, P. and W. H. FISHMAN:
 β -Glucuronidase. I. Purification of calf spleen β -Glucuronidase.
J. biol. Chem. 202, 757 (1953)
6. BERTELSEN, S. :
The role of ground substance, collagen and elastic fibers in the
genesis of atherosclerosis.
In: M. Sandler and G. H. Bourne: Atherosclerosis and its
origin. New York - London, Academ. Press (1963)
7. BJÖRLING, E. :
Über mukoides Bindegewebe.
Virchows Arch. path. Anat. 205, 71 (1911)
8. BOLLET, A. J., W. M. BONNER and J. L. NANCE:
The presence of hyaluronidase in various mammalian tissues.
J. biol. Chem. 238, 3522 (1963)

9. BOLLET, A. J., J. F. GOODWIN and A. K. BROWN:
Metabolism of mucopolysaccharides in connective tissue.
I. Studies of enzymes involved in glucuronide metabolism.
j. clin. Invest. 38, 451 (1959)
10. BOROOAH, J., D. H. LEABACK and P. G. WALKER:
Studies on glucosaminidase. 2. Substrates for N-acetyl-
β-glucosaminidase.
Biochem. J. 78, 106 (1961)
11. BOSTRÖM, H. :
Einige Aspekte zum Metabolismus der Mucopolysaccharide.
In: W. H. Hauss und H. Losse: Struktur und Stoffwechsel
des Bindegewebes. Stuttgart (1960)
12. BOSTRÖM, H. and L. RODEN :
In: E. A. Balazs and R. W. Jeanloz: The Amino Sugars,
vol. 2 B, New York - London, Academ. Press (1966)
13. BREDT, H. :
Morphologie und Pathogenese der Arteriosklerose.
In: Arteriosklerose. Stuttgart (1961)
14. BREDT, H. :
Die Morphologie der Arteriosklerose.
Verh. dtsch. Ges. Path. 41, 11 (1958)
15. BUCK, R. C. :
Electron microscopic observations on capillaries of
arteriosclerotic aorta.
Arch. Path. 67, 656 (1959)
16. BUDDECKE, E. :
Arteriosklerotische Veränderungen am Aortenbindegewebe
des Menschen.
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 310, 182 (1958)

17. BUDDECKE, E. :
Angiochemische Alterswandlungen des Aortenbindegewebes.
Verh. d. Dt. Ges. f. Kreislaufforsch. , 24. Tagung, S. 143 (1958)
18. BUDDECKE, E. :
Quantitative Zusammensetzung des Gefäßbindegewebes.
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 310, (1958)
19. BUDDECKE, E. :
Mucopolysaccharide in der Aortenwand.
Tagung d. Ges. Phys. Chem. Berlin Sept. 1959
20. BUDDECKE, E. :
Darstellung und chemische Zusammensetzung von Mucopolysacchariden der Aorta des Menschen.
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 318, 33 (1960)
21. BUDDECKE, E. :
Die Mucopolysaccharide in der Gefäßwand.
Dtsch. med. Wschr. 86, 1773 (1961)
22. BUDDECKE, E. :
Wechselwirkungen des Diffusionsfaktors Oligo-N-methylmorpholinium-propylenoxyd mit anionischen Polysacchariden.
Hoppe-Seylers Z. physiol. -Chem. 330, 84 (1962)
23. BUDDECKE, E. :
Biochemie der Arterienwand.
Umschau 21, 668 (1963)
24. BUDDECKE, E. und R. DRZENIEK:
Stabilitätskonstanten der Calciumkomplexe von sauren Mucopolysacchariden.
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 327, 49 (1962)
25. BUDDECKE, E. und O. HOEFELE:
Reinigung und Eigenschaften der β -Glucuronidase aus der Aorta des Rindes.
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 347, 173 (1966)

26. BUDDECKE, E., W. KRÖZ und E. LANKA:
Chemische Zusammensetzung und makromolekulare Struktur
von Chondroitinsulfat-Proteinen.
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 331, 196 (1963)
27. BUDDECKE, E. und D. PLATT:
Nachweis, Reinigung und Eigenschaften der Hyaluronidase
aus der Aorta des Rindes.
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 343, 61 (1965)
28. BUDDECKE, E. und G. REICH:
Darstellung und Eigenschaften eines Kathepsins aus
Rinderarteriengewebe.
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 348, 1616 (1967)
29. BUDDECKE, E., G. REICH und U. STEIN:
Über die saure Carboxypeptidase in der Aorta des Rindes.
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 347, 192 (1966)
30. BUDDECKE, E. und M. SCHUBERT:
Isolierung und chemische Zusammensetzung eines Chondroitin-
sulfat-Proteins aus der Aorta des Menschen.
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 325, 189 (1961)
31. BUDDECKE, E. und E. WERRIES:
Reinigung und Eigenschaften der β -Acetylglucosaminidase
aus der Aorta des Rindes.
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 340, 257 (1965)
32. BÜRGER, M. und G. SCHLOMKA:
Ergebnisse und Bedeutung chemischer Gewebsuntersuchungen
für die Altersforschung.
Klin. Wschr. 7, 1944 (1928)
33. BURDACH, E. :
Achter Bericht; mit Bemerkungen über die ernährenden Ge-
fäße der Puls- und Blutadern.
Berichte v. d. königl. anat. Anstalt zu Königsberg (1835)

34. CERIOTTI, G.:
A microchemical determination of desoxyribonucleic acid.
J. biol. Chem. 198, (1952)
35. COHN, Z. A. and E. PARKS:
The regulation of pinocytosis in mouse macrophages.
II. Factor inducing vesicle formation.
J. Exper. Med. 125, 213 (1967)
36. COHN, Z. A. and E. PARKS:
The regulation of pinocytosis in mouse macrophages.
IV. The immunological induction of pinocytic vesicles,
J. Exper. Med. 125, 1091 (1967)
37. DIETZEL, P. B. :
Histochemische Befunde an der Gefäßwand bei Arteriosklerose.
Verh. dtsh. Ges. Path. 102, (1957)
38. DOHRMANN, R. :
Zur klinischen Bestimmung und Kinetik der β -Glucuronidase.
Dtsch. Arch. klin. Med. 206, 322 (1960)
39. DORFMAN, A. :
Metabolism of acid mucopolysaccharides.
Biophys. J., Suppl. to vol. 4, 155 (1964)
40. DORN, M. :
Glycosaminoglycano-Hydrolasen im menschlichen Rippen-
und Kniegelenkknorpel.
Inaugural-Dissertation, Gießen (1968)
41. DYRBYE, M. and J. E. KIRK:
The β -glucuronidase-activity of aortic and pulmonary tissue
in individuals of various ages.
J. Gerontol. 2, 33 (1956)
42. DYRBYE, M. and J. E. KIRK:
Mucopolysaccharides of human arterial tissue.
J. Geront. 12, (1957)

43. FINDLAY, J. and G.A. LEVY:
Purification of β -N-acetylglucosaminidase from the pig epididymis.
Biochem. J. 77, 170 (1960)
44. FISHMAN, W.H.:
 β -Glucuronidase.
In: Sumner and Myrbäck: The Enzymes, Vol. 4 (1)
642, New York - London, Academ. Press (1950)
45. GERÖ, S., J. GERGELY, T. DEVENYI, L. JAKAB, J. SZEKEL
and S. VIRAG:
Role of intimal mucoid substances in the pathogenesis of
atherosclerosis. I. Complex formation "in vitro" between
mucopolysaccharides from atherosclerotic aortic intimas
and plasma β -lipoprotein and fibrinogen.
J. Atheroscler. Res. 1, 67 (1961)
46. GIBIAN, H.:
Mucopolysaccharide und Mucopolysaccharidasen.
F. Deuticke-Verlag, Wien (1959)
47. GREILING, H., H.W. STUHLSTADT und L. PLAGEMANN:
Die Chondroitin-4-Sulfat-Peptidase der Rinder-Cornea.
Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 348, 121 (1967)
48. HAUSS, W.H., G. JUNGE-HÜLSING und H.J. HOLLÄNDER:
J. Atheroscler. Res. 2, 50 (1962)
49. HAUSS, W.H. und G. JUNGE-HÜLSING:
Über die universelle unspezifische Mesenchymreaktion.
Dtsch. med. Wschr. 86, (1961)
50. HELD, E., O. HOEFLE, G. REICH, U. STEIN und E. BUD-
ECKE:
Wirkungssynergismus Chondroitin-4-Sulfat-Protein abbauender
Enzyme des Aortengewebes.
Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 4, 244 (1968)

51. HELFERICH, B. und A. ILOFF:
Über Emulsin. XII. Darstellung und fermentative Spaltung
von Glycosiden des N-Acetyl-glucosamins und der 2-
Desoxyglucose.
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 221, 252 (1933)
52. HEVELKE, G. :
Die Angiochemie der Gefäße und ihre physiologischen
Alternswandlungen.
Verh. Dtsch. Ges. Kreislaufforsch. 24, 131
53. HILZ, H., C. ERICH und D. GLAUBITT:
Veränderung von Zelldichte und Polysaccharidstoffwechsel
im alternden Bindegewebe.
Klin. Wschr. 41, 332 (1963)
54. HILZ, H. :
Zit. in: Lindner: Histochemie der Arteriosklerose.
In: Schettler: Arteriosklerose, S. 63 (Stuttgart, 1961)
55. HILZ, H. und D. UTERMANN :
Der Stoffwechsel der Gefäßwand in Beziehung zur Arterio-
sklerose und seine Beeinflussung durch Sexualhormone.
Biochem. Z. 332, 376 (1960)
56. HOEFELE, O. :
Die β -Glucuronidase der Aorta des Rindes - ihre Reinigung,
Eigenschaften und physiologische Funktion.
Inaugural-Dissertation, Tübingen (1967)
57. JUNGE-HÜLSING, G. :
Untersuchungen zur Pathophysiologie des Bindegewebes.
Bd. 24, Dr. A. Hüthig-Verlag, Heidelberg (1965)
58. KAHN, S. G. and A. SLOCUM:
Enzyme activities in aortas of rats atherogenic diet.
Amer. J. Pathol. 213, 373 (1967)

59. KAHN, S.G. and A. SLOCUM:
Enzyme activities in aortas of chickens fed atherogenic diet.
Amer. J. Pathol. 213, 367 (1967)
60. KAPLAN, D. and K. MEYER:
Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 105, 78 (1960)
61. KATSURA, N. and E.A. DAVIDSON :
Metabolism of connective tissue mucopolysaccharides in vivo. IV. The sulphate group.
Biochem. biophys. Acta 121, 135 (1966)
62. KECK, K. :
An ultramicro technique for the determination of desoxypentose nucleic acid.
Arch. Biochem. Biophys. 63, 446 (1956)
63. KIM, D.N., K. T. LEE and W.A. THOMAS:
Dietary-induced atherosclerosis in miniature swine.
IV. Metabolic studies: In vitro protein synthesis by aortic strips from swine fed atherogenic diet.
Experim. and Molecul. Pathol. 8, 290 (1968)
64. KIRK, J. E. :
Circulation 18, 487 (1958)
J. Geront. 17, 154 (1962)
65. KLEINE, T.O., H. -J. KIRSIG und H. HILZ:
Über die Koordinierung von Protein-, Polysaccharid- und Sulfatester-Synthese im Rippenknorpel von Kälbern.
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 349, 1037 (1968)
66. KLEINE, T.O. und H. HILZ:
Charakterisierung der Protein-Polysaccharide aus Kälber-rippenknorpel und ihre in-vivo-Markierung mit $^{35}\text{SO}_4$.
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 349, 1027 (1968)

67. KLYNSTRA, F.B., C.J.F. BÖTTCHER, J.A. VAN MELSEN
and E.J. VAN DER LAAN:
Districction and composition of acid mucopolysaccharides in
normal and atherosclerotic human aortas.
J. Atheroscler. Res. 7, 301 (1967)
68. KRESSE, H. und E. BUDDECKE:
Aktivitätsmessungen von Glycosaminoglycano-Hydrolasen
des Arteriengewebes im Alter und bei Arteriosklerose.
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 348, 1235 (1967)
69. KRESSE, H. und E. BUDDECKE:
Veränderungen in der Aktivität Chondroitinsulfat-Protein
abbauender Enzyme (Glycosaminoglycano-Hydrolasen und
Peptidhydrolasen) des Arteriengewebes im Alter und bei
Arteriosklerose.
Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 6, 251 (1968)
70. KRISCH, K. :
Lysosomen.
Dtsch. med. Wschr. 91, 1274 (1966)
71. KUMAR, V., G.S. BERENSON, H. RUIZ, E.R. DALFERES jr.
and J.P. STRONG:
Acid mucopolysaccharides of human aorta.
II. Variations with atherosclerotic involvement.
J. Atheroscler. Res. 7, 583 (1967)
72. KUMAR, V., G.S. BERENSON, H. RUIZ, E.R. DALFERES jr.
and J.P. STRONG:
Acid mucopolysaccharides of human aorta.
I. Variations with maturation.
J. Atheroscler. Res. 7, 573 (1967)
73. LEVVY, G.A. and C.A. MARSH:
Preparation and properties of β -glucuronidase.
Adv. Carbohyd. Chem. 14, 381 (1959)

74. LEVY, G. A. and C. A. MARSH:
In: Boyer, Lardy, Myrbäck: The Enzymes, Vol. 4, 397
New York - London, Academ. Press (1960)
75. LINDAHL, A.:
The structures of xyloserine and galactosylxylosylserine
from heparin.
Biochim. Biophys. Acta 130, 361 (1966)
76. LINDNER, J. :
Histochemische und biochemische Untersuchungen an der
Grundsubstanz.
Res. Sympos. Kamp-Lintfort, Staufen-Verlag (1960)
77. LINDNER, J. :
Statische Angiochemie der Arteriosklerose.
In: Schettler: Arteriosklerose, S. 90, Stuttgart (1961)
78. LINDNER, J. :
Histochemie der Arteriosklerose.
In: Schettler s. o. S. 51
79. LINDNER, J. :
Die Alters- und Wachstumsveränderungen der Arterien.
In: Schettler s. o.
80. LINKER, A., K. MEYER and B. MEISSMANN:
Enzymatic formation of monosaccharidase from hyaluronate.
Biochem. J. 213, 237 (1954)
81. MCGILL, H. C. jr., J. C. GEER and J. P. STRONG:
Natural history of human atherosclerosis.
In: Sandler and Bourne: Atherosclerosis and its origin,
New York - London, Academ. Press (1963)
82. MEYER, K. :
Zit. in: Schallock, G. : Die degenerativen Gefäßwandumbildun-
gen unter besonderer Berücksichtigung der Bedeutung der
Grundsubstanz.
In: M. Ratschow: Angiologie, S. 217, Stuttgart (1959)

83. MEYER, K. :
In: J.H. Paye: Connective tissue, Thrombosis and atherosclerosis, p.189,
New York - London, Academ. Press (1959)
84. MEYER, K. :
Struktur und Biologie der Polysaccharidsulfate im Bindegewebe.
In: W.H. Hauss und H. Losse: Struktur und Stoffwechsel des Bindegewebes. S. 12, Stuttgart (1960)
85. MEYER, K., E. DAVIDSON, A. LINKER and P. HOFFMAN:
The acid mucopolysaccharides of connective tissue.
Biochim. Biophys. Acta 21, 506 (1956)
86. MEYER, K., P. HOFFMANN and A. LINKER:
Hyaluronidases.
In: Boyer, Lardy, Myrbäck: The Enzymes, Vol. 4, 447,
New York - London, Academ. Press (1960)
87. MEYER, W.W. :
Über das normale und pathologische Gewicht der Aorta erwachsener Menschen in seiner Beziehung zur Arteriosklerose.
Virchows Arch. 320, 67 (1951)
88. MILCH, R.A. :
Matrix properties of the aging arterial wall.
Monographs in the surgical science, Vol. 2, No. 4
89. MUSA, B.U., R.P. DOE and U.S. SEAL:
Purification and properties of human liver β -glucuronidase.
J. biol. Chem. 240, 2811 (1965)
90. NEWMAN, H.A.I., E.M. CANDLESS and D.B. ZILVERSMIT:
The synthesis of ^{14}C -Lipids in rabbit atheromatous lesions.
J. biol. Chem. 236, 1264 (1961)

91. PARKER, F., J.W. ORMSBY, N.F. PETERSON, G.F. ODLAND
and R.H. WILLIAMS:
In vitro-studies of phospholipid synthesis in experimental
atherosclerosis.
Circulation Res. 19, 700 (1966)
92. PETTENGILL, O.S. and W.H. FISHMAN:
The preparation and purification of β -glucuronidase from
mouse liver, kidney and urine.
J. biol. Chem. 237, 24 (1962)
93. PLATT, D.:
Hyaluronidase-, β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase-
Aktivität in normalen und arteriosklerotisch veränderten
menschlichen Aorten.
Klin. Wschr. 45, 92 (1967)
94. PLATT, D.:
Hyaluronidase-, β -Glucuronidase- und β -Acetylglucosaminidase-
Aktivität in normalen und arteriosklerotisch veränderten
Coronar- und Cerebralarterien des Menschen.
Unveröffentlichte Ergebnisse
95. PLATT, D., G. BENEKE und E. BUDDECKE:
Untersuchungen zur Vergleichbarkeit chemischer und histo-
chemischer Befunde von arteriosklerotisch veränderten
menschlichen Aorten.
Klin. Wschr. 45, 542 (1967)
96. PLATT, D. und M. DORN:
Glycosaminoglycano-Hydrolasen im menschlichen Rippen- und
Kniegelenkknorpel.
Z. ges. exp. Med. 147, 253 (1968)
98. PLATT, D. und R. HARTMANN:
Hyaluronidase, β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase
in epithelialen und mesenchymalen menschlichen Geweben.
Klin. Wschr. 45, 998 (1967)

99. PLATT, D. und H.-P. LUBOEINSKI:
Der katabole Mucopolysaccharidstoffwechsel in der arterio-
sklerotisch veränderten menschlichen Aortenwand.
3. Angiologisches Symposium, Kitzbühel (1968)
100. PLATT, D. und H.-P. LUBOEINSKI:
Glycosaminoglycano-Hydrolasen in normalen und arteriosklerotisch veränderten menschlichen Aorten.
3. Symposium "Gefäßwand und Blutplasma", Leipzig (1968)
101. PLATT, D. und H.-P. LUBOEINSKI:
Der katabole Mucopolysaccharidstoffwechsel der menschlichen Aortenwand in Abhängigkeit vom Alter.
Z. Gerontol. 2, 17 (1969)
102. PLATT, D. und H.-P. LUBOEINSKI:
The activities of glycosaminoglycan hydrolases of normal and arteriosclerotic human aorta.
Angiologica 6, 19 (1969)
103. PLATT, D. und D. PERNICE:
Untersuchungen zum katabolen Mucopolysaccharidstoffwechsel peripherer Gefäße.
In Arbeit
104. PLATT, D. und B. SCHNORR:
Biochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen an normalen und arteriosklerotisch veränderten menschlichen Aorten.
Unveröffentlichte Ergebnisse
105. PUGH, D., D.H. LEABACK and P.G. WALKER:
Studies on glucosaminidase N-acetyl- β -glucosaminidase in rat kidney.
Biochem. J. 65, 464 (1957)

107. RITZ, E. :
Der Pentosezyklus im Arteriengewebe.
J. Atheroscler. Res. 8, 445 (1968)
108. ROBERTSON :
Zit. bei J. Pfeiffer: Vortrag auf der 52. Tagung der
deutschen Gesellschaft für Pathologie.
Würzburg (1968)
109. RODEN, R. and R. SMITH :
Structure of the neutral trisaccharide of the Chondroitin-
4-Sulfate linkage region.
J. biol. Chem. 24, 5949 (1966)
110. RYU, S. :
Enzymological studies on rabbit arterial tissue in experi-
mental arteriosclerosis, glutamic oxalacetic transaminase
activity of rabbit aorta.
Jap. Circulat. J. 23, 1047 (1959)
111. SANWALD, R. und J. E. KIRK :
Transaminasen-Aktivität in normalem und arteriosklerotisch
verändertem Arteriengewebe des Menschen.
Klin. Wschr. 171, 940 (1965)
112. SCHETTLER, G. :
Arteriosklerose - Ätiologie, Pathologie, Klinik und Therapie.
Thieme-Verlag, Stuttgart (1961)
113. SCHALLOCK, G. :
Die degenerativen Gefäßwandumbildungen unter besonderer
Berücksichtigung der Bedeutung der Grundsubstanz.
In: M. Ratschow: Angiologie, Stuttgart (1956)

114. SCHULTZ, A.:
Über die Chromotropie des Gefäßbindegewebes in ihrer
physiologischen und pathologischen Bedeutung, insbesondere
ihre Beziehungen zur Arteriosklerose.
Virchows Arch.path. Anat. 239, 415 (1922)
115. SELLINGER, O. Z., H. BEAUFAY, P. JACQUES, A. DOYEN
and C. de DUVE:
Tissue fractionating studies. 15. Intracellular distribution
and properties of β -N-glucosaminidase and β -galactosidase
in rat liver.
Biochem.J. 74, 450 (1960)
116. SMITH, E. B.:
The influence of age and atherosclerosis on the chemistry
of aortic intima.
J. Atheroscler. Res. 5, 41 (1965)
117. SSOLOWJEW, A.:
Über die Zwischensubstanz der Blutgefäßwand.
Virchows Arch. path. Anat. 241, 1 (1923)
118. STAUBESAND, J.:
Funktionelle Morphologie der Arterien, Venen und arterio-
venösen Anastomosen.
In: M. Ratschow: Angiologie, Stuttgart (1959)
119. TALALLAY, P., W. H. FISHMAN and CH. HUGGINS:
Chromogenic substrates. II. Phenolphthalein glucuronic
acid as substrate for the assay of glucuronidase activity.
J. biol. Chem. 166, 757 (1946)
120. TERNER, C. and F. R. DAREY:
The incorporation of 2-¹⁴C Mevalonate and 1-¹⁴C Acetate
into lipids of aorta and heart homogenates of the turtle
(pseudymis, SP).
Biochim. Biophys. Acta 98, 194 (1965)

121. THOMA, R. :
Über die Strömung des Blutes in der Gefäßbahn usw.
Beitrag path anat 66. (1920)
Zit. nach Benninghoff (1930)
122. WEICHSELBAUM, T. E. :
Amer. J. clin. Path. 10, 49 (1946)
123. WERRIES, E. :
Darstellung und Eigenschaften von β -N-Acetyl-D-hexosaminidase
Inaugural-Dissertation, Tübingen (1965)
124. WOOLLEN, J. W. , R. HEYWORTH and P. G. WALKER :
Studies on glucosaminidase. 3. Testicular N-acetyl- β -glucosaminidase and N-acetyl- β -galactosaminidase.
Biochem. J. 78, 111 (1961)
125. WOOLLEN, J. W. , P. G. WALKER and R. HEYWORTH :
Studies on glucosaminidase. 6. N-acetyl- β -glucosaminidase and N-acetyl- β -galactosaminidase activities of a variety of enzyme preparations.
Biochem. J. 79, 294 (1961)

Statistische Literatur :

DOCUMENTA GEIGY:

Wissenschaftliche Tabellen

6. Auflage. J. R. Geigy A. G. Basel, 1960

DOERFFEL, K.:

Beurteilung von Analysenverfahren und -ergebnissen.

2. Auflage, Springer-Verlag, Berlin, 1965

HASELOFF, O. W. und H. J. HOFFMANN:

Kleines Lehrbuch der Statistik.

2. Auflage, Verlag Walter de Gruyter, Berlin, 1965

LINDNER, A.:

Statistische Methoden für Naturwissenschaftler,
Mediziner und Ingenieure.

4. Auflage, Birkhäuser Verlag, Basel und Stuttgart, 1964

PFANZAGL, J.:

Allgemeine Methodenlehre der Statistik, I und II.

Sammlung Götschen Bd. 746/746 a und 747/747 a,
Berlin, 1966

REICH, TH.:

Idee und Praxis der medizinischen Statistik.

Verlag Hans Huber, Bern und Stuttgart, 1964

SCHMIDT, W.:

Anlage und statistische Auswertung von Untersuchungen.

Verlag M. und H. Schaper, Hannover, 1961

Herrn Prof. Dr. H.G. Lasch danke ich für die Möglichkeit,
in seiner Abteilung der Medizinischen Kliniken zu arbeiten.

Ganz besonders danke ich Herrn Priv.-Doz. Dr. D. Platt
für die Überlassung des Themas und die Unterstützung beim
Anfertigen dieser Arbeit.

Für die Überlassung des Untersuchungsgutes möchte ich
Herrn Prof. Dr. W. Sandritter (vormaliger Direktor des
Pathologischen Institutes) und seinen Assistenten danken.

Herrn Manfred Maixner bin ich für die philologische Bera-
tung beim Korrekturlesen dankbar.

Lebenslauf:

Am 13. Oktober 1943 wurde ich als erstes Kind des Verwaltungsangestellten Hans Luboeinski und seiner Ehefrau Maria, geborene Dornoff, in Lindenholzhausen, Kreis Limburg/Lahn, geboren.

Dort erfolgte auch Ostern 1950 meine Einschulung. Ab Ostern 1954 besuchte ich den humanistischen Zweig der Tilemannschule in Limburg/Lahn und legte dort Ostern 1963 die Reifeprüfung ab.

Danach leistete ich einen einjährigen Grundwehrdienst bei der Bundeswehr ab. Anschließend begann ich im Sommersemester 1964 mit dem Studium der Medizin an der Justus Liebig-Universität in Gießen, bestand nach zwei Semestern die naturwissenschaftliche Vorprüfung und nach weiteren drei Semestern das Physikum.

Im Juli 1970 beendete ich das Studium mit dem Staatsexamen.

